Münster i/W. 1934. No 3 Med Diss.

Aus der Kinderklinik der Medizinischen Akademie
Düsseldorf
Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. Schloßmann.

Beitrag zur Reststickstoff-Forschung unter besonderer Berücksichtigung der Kowarskischen Ureometermethode.

Referent Prof. Dr. Eckstein.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde
eines Doctor medicinae
durch die Medizinische Fakultät
der
Westfälischen Wilhelm Universität in Münster
in Gemeinschaft
mit der Medizinischen Akademie
in Düsseldorf
vorgelegt von

Siegmund Ball
aus Düsseldorf

Buchdruckerei Heinr. Ohligschläger, Düsseldorf
1931.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dem Andenken
meines lieben Vaters.

I.

Die Bestimmung des Reststickstoffs bezw. des Harnstoffstickstoffs im Blute gehört zweifellos zu den schwierigsten chemisch-physiologischen Untersuchungsmethoden. Allein schon die unverhältnismäßig große Zahl empfohlener Methoden, die unter Wahrung eines Untersuchungsprinzips (es gibt deren wenige) meistenteils Modifikationen einer gebräuchlichen Methode zur Vereinfachung oder Erzielung genauerer Resultate darstellen, beweist die Kompliziertheit einer Reststickstoff- oder Harnstoffstickstoffbestimmung. Wir verstehen in diesem Falle unter Kompliziertheit nicht so sehr die technischen als vielmehr die im Stickstoffproblem selbst verborgenen Schwierigkeiten. Allerdings werden diese erst offenbar, wenn man die Resultate zweier Methoden vergleicht und sich dann vor die Frage gestellt sieht, welche Werte man als die „richtigen" anzusprechen hat. Diese an und für sich sehr einfache Fragestellung war der Ausgangspunkt für alle angestrebten Verbesserungen, die in einer Vereinfachung der Methodik auch gleichzeitig den Weg zum optimalen Wert zu finden hofften. Leider verlaufen die Begriffe „einfach" und „genau" in der Methodik zur Gewinnung biologischer Erkenntnisse sehr oft auch in umgekehrter Richtung, sodaß die bestechende Einfachheit einer Methode oftmals auch eine unbestechliche Unzuverlässigkeit aufweist.

Der exakte Forscher wird sich zu einer bestimmten Methode viel leichter entschließen können als der reine Kliniker. Während für den Entschluß des ersteren der Gesichtspunkt größtmöglicher Genauigkeit ausschlaggebend ist, fallen für letzteren noch eine Reihe anderer Faktoren, deren Berücksichtigung eine Methode erst für den klinischen Gebrauch geeignet macht, mitbestimmend ins Gewicht. Der Forscher wird von dem Streben geleitet, der physiologischen Wahrheit möglichst nahezukommen, der Kliniker, unter möglichst geringem Aufwand an Zeit, einschlägigen Kenntnissen und laboratoriumstechnischer Erfahrung klinisch verwertbare Resultate zu erhalten. Für diesen ist eine Reststickstoffbestimmung ein oft entbehrliches diagnostisches und prognostisches Hilfsmittel zur Beurteilung eines Krankheitsbildes, für jenen aber ein Experiment im streng naturwissenschaftlichen Sinne, ein wichtiges Glied in der Beweiskette einer Behauptung.

Dem Kliniker kommt es vor allem darauf an, festzustellen, ob eine Retention vorliegt, und wie hoch sie ungefähr ist. Ein etwaiger Fehler bis zu 20 %, der der Methode selbst anhaften kann, ist für die klinische Bewertung eines Krankheits-

bildes ohne Einfluß. Werte an der Grenze des Physiologischen hingegen können als allein ausschlaggebendes Moment für eine Diagnose nicht herangezogen werden, da die Angaben kompetenter Forscher über maximale Normalwerte zwischen 35 und 50 mg % schwanken, die Normbreite also immer noch über 40 % des niedrigsten Maximalwertes beträgt.

II.

Obwohl die Reststickstofforschung auf eine fast 70 jährige Vergangenheit zurückblicken kann, und ihre Literatur demzufolge einen dem Alter und der Kompliziertheit des Problems entsprechenden Umfang angenommen hat, harren noch viele Fragen ihrer Beantwortung. Ivar Bang, Johann Feigl, Folin und Wu, Slyke, M. v. Krogh, Richter-Quittner u. a. haben Beträchtliches geleistet. Ihnen verdanken wir die Aufteilung des chaotischen Fragenkomplexes in Teilprobleme, sie haben den aneinander vorbeiredenden, widerstreitenden Meinungen Zielrichtung gegeben und so verhütet, daß sich die Diskussion ins Uferlose verlor. Bedenkt man, daß in der älteren Literatur Stickstoffwerte bis zu 100 mg % bei Normalen ernstlich diskutiert worden sind, so wird man die Bedeutung der geleisteten Arbeit ermessen können.

Wie war es möglich, daß solche uns heute phantastisch anmutende Zahlen aufgestellt werden konnten? Mit dieser Frage betreten wir den Boden der Kritik, deren vornehmlichste Aufgabe es sein sollte, durch vergleichendes Studium die in der Literatur gesammelten Ergebnisse nach Gesichtspunkten des Erreichten und Anzustrebenden zu sichten, um so viel nutzlose Arbeit zu ersparen und auf noch zu leistende hinzuweisen.

Das Kernproblem der Stickstofforschung lautet immer noch: Was ist Reststickstoff? Wir verbinden mit diesem Begriff zwar eine ganz bestimmte Vorstellung und bezeichnen als Reststickstoff (R.—N) [1]) oder Nichteiweißstickstoff oder Nichtproteinstickstoff den nach vollständiger Enteiweißung des Vollblutes, Plasmas oder Serums im Filtrat verbliebenen Stickstoff von Nichteiweißverbindungen, eine auf den ersten Blick durchaus eindeutig erscheinende Definition. Leider deckt sich aber diese Definition nicht ganz mit den bisher erzielten Ergebnissen, da sowohl die qualitative als auch die quantitative Fraktionierung des R.—N bisher noch nicht restlos gelungen ist. Hier setzt die Schwierigkeit des Problems ein, worauf wir noch in einem anderen Zusammenhang zu sprechen kommen werden.

---

[1]) Andere Bezeichnungen für R.—N sind auch Extraktiv — N (Bang) und Retentions — N (Strauß).

III.

Zwei Prinzipien sind es, die vor allen anderen die Stickstoffmethodik beherrschen, das Kjeldahl-Prinzip: Ueberführung des Filtratstickstoffs unter Veraschung mit konzentrierter Schwefelsäure in Ammonsulfate mit nachfolgender Bestimmung des durch Destillation unter Zusatz von Natronlauge aus den Ammonsulfaten ausgetriebenen Ammoniaks und das Bromlauge-Prinzip: Bestimmung des durch Einwirkung von Bromlauge auf Harnstoff freigewordenen Stickstoffs.

Aelter als die Kjeldahlmethoden zur Bestimmung des R.—N sind die Bromlauge-Methoden zur Bestimmung des Harnstoffstickstoffs (H.—N, Ur—N), genauer des Summarischen Harnstoffstickstoffs (Sa H.—N, Ur—N). Wir begegnen dem Worte „Summarisch" zum ersten Male in der älteren französischen Literatur (Ambard, Gallion, Widal, Yvon u. a.) als begrifflichen Ausdruck für die Stickstoff freimachende Eigenschaft der Bromlauge nicht nur Harnstoff sondern auch Ammoniak, Kreatinin und anderen noch unbekannten Stoffen gegenüber; deswegen auch die Bezeichnung „Bromlaugestickstoff" für Sa H.—N.

Der Sa H.—N verteilt sich nach Angaben von B. Albert zu 98—99 % auf H.—N, zu 0,5—1 % auf Ammoniak und zum restlichen Prozentsatz auf Spuren von Kreatinin und anderen unbekannten Stoffen. Die zweite Hauptfraktion des R.—N hingegen, der Summarische Aminosäurenstickstoff (Sa A.—N), kann als Ganzes methodisch nicht erfaßt werden, sondern stellt einen aus der Differenz zwischen R.—N und Sa H.—N errechneten Wert dar. Der Sa A.—N setzt sich zusammen zu etwa 50 % aus Aminosäuren (in der Hauptsache Leucin, Alanin und Glykokoll, ferner Valin, Tyrosin, Prolin, Arginin, Lysin, Hystidin, Asparaginsäure und Glutaminsäure), zu etwa 16 % aus Kreatin, Harnsäure und Gesamtpurinen (freie und gebundene), und der restliche Prozentsatz entfällt auf Indikan, Oxyproteinsäuren [1]) und Spuren anderer noch unbekannter Stoffe. Auf R.—N bezogen, verringern sich die Prozentsätze gemäß dem ca. 50 % Anteil des Sa A.—N am R.—N um etwa die Hälfte. Es muß jedoch einschränkend ausdrücklich vermerkt werden, daß diese Prozentzahlen errechnete Mittelwerte von in beträchtlicher Normbreite schwankenden Zahlen darstellen. Sie sind Angaben von Albert, Bang, Feigl, Folin und Wu, Denis, Mandel und Steudel, Marshall, Slyke und Cullen, Thannhauser und Czonizer, Gorschkoff, Grigorieff, Koutourska, Stei-

[1]) Das Vorhandensein von Oxyproteinsäuren im Filtrat ist noch umstritten.

nitz, Bock, Baß, Haas, Gettler und Baker entnommen. Danach sollen in 100 ccm Blutserum enthalten sein:

R.—N		18,0—36,0 mg
H.—N		10,0—22,0 mg
Aminosäuren—N		7,0—13,0 mg
a) Kreatin oder gebundenes oder praeformiertes Kreatinin	4,0—5,0 mg	
b) (Freies) Kreatinin	1,0—2,0 mg	
Harnsäure—N		1,0—1,5 mg
[Andere Angaben 1,0—4,2 mg]		
Purinbasen—N		3,0—4,5 mg
a) Freie Purine	1,0—1,5 mg	
b) Gebundene Purine oder Nucleotide	2,0—3,0 mg	
Ammoniak—N		ca. 0,5 mg
Indikan—N	Spuren	ca. 0,5 mg
Stickstoff unbekannter Stoffe	Spuren	
Oxyproteinsäuren—N	?	

(s. Fußnote S. 7)

Nach Bang beträgt der Anteil des Sa H.—N am R.—N 45—60 %, nach Feigl ca. 50 %.

Unterziehen wir die Tabelle einer näheren Prüfung, so werden uns verschiedene Unstimmigkeiten auffallen. Addieren wir — um nur ein Beispiel herauszugreifen — die Minimalwerte der einzelnen R.—N-Bestandteile, so erhalten wir nicht als Summe den Minimalwert des R.—N, sondern eine dem Maximalwert des R.—N nahekommende Summe. Theoretisch müßte man sogar erwarten, daß die Summe der Minimalwerte oder Maximalwerte der R.—N-Bestandteile kleiner resp. größer ist als die entsprechenden R.—N Werte, da es wohl nie vorkommt, daß in einem Blute R.—N-Bestandteile in Minimalwert resp. Maximalwert vorhanden sind. So sind z. B. die beiden Hauptfraktionen meistens in reziproken Mengenverhältnissen vorhanden. Noch deutlicher ist diese Abhängigkeit zwischen Purinen und Harnsäure, da letztere neben Harnstoff und Allantoin eins der Endprodukte der Purine darstellt. Aehnlich verhält es sich mit Kreatin und Kreatinin. Wie ist nun diese Unstimmigkeit zwischen Summe der R.—N-Bestandteile und entsprechendem Gesamt-R.—N zu erklären? Drei Dinge scheinen uns von Wichtigkeit: Erstens ist eine genaue Fraktionierung in der Hauptsache eine Frage der exakten Isolierung, die der eigentlichen Bestimmung vorausgeht. Da bei den meisten Isolierungsmethoden außer Extraktionen Eiweißfällungsprozesse mitspielen, so ist in dieser Tatsache allein schon eine nicht zu ignorierende Fehlerquelle gegeben, wor-

auf wir noch bei der Frage der Enteiweißung zu sprechen kommen werden. Zweitens werden durch die Einwirkung von Hitze und Chemikalien mehr oder weniger geringe Mengen der zu erfassenden Fraktion der Bestimmung entgehen, wieder andere unerwünschte Stoffe sich, als Umwandlungsprodukte verkappt, in die Bestimmung einschleichen. Drittens muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die „Spezifität" eines Reagens auf den jeweilig der quantitativen Erfassung unterliegenden Stoff keine strenge ist, sodaß ein und derselbe Stoff — wenn auch in kleinen Mengen — mehrere Male auf Konto der jeweils zur Bestimmung stehenden Fraktion als verborgener übermertiger Fehler zahlenmäßig zum Ausdruck kommt. Dies sind alles Ursachen, die ihrerseits auf vorerst noch unvermeidbaren Unzulänglichkeiten in der Methodik beruhen. Aber selbst bei den günstigsten methodischen Voraussetzungen wird aus einer Tabelle angeführter Art, obwohl sie eine Zusammenfassung von Hunderten von Bestimmungen darstellt, eine Uebereinstimmung zwischen Summe aller R.—N-Bestandteile und korrespondierendem R.—N-Wert nicht festgestellt werden können. Warum dies nicht der Fall sein kann, darauf müssen wir etwas näher eingehen.

IV.

Es wird immer eine unliebsame Erkenntnis bleiben, wenn man nach Ueberprüfung einer großen Zahl von Versuchen feststellen muß, daß sich Normalwerte in einem weiten Schwankungsbereich bewegen. Dadurch ist einem der Einblick in die feineren Zusammenhänge des intermediären Stoffwechsels wesentlich erschwert. Man versucht, diesem erschwerenden Umstande dadurch zu begegnen, daß man den Normbereich durch Aufstellung von Minimal-, Maximal- und Durchschnittswerten übersichtlicher gestaltet. Diese Werte können aber nur dann ihren Zweck erfüllen, wenn sie auch tatsächlich solche Werte sind, d. h., das Ergebnis großer Reihenuntersuchungen. Dies ist aber gar zu oft nicht der Fall. Es wäre doch lediglich ein Zufall, wenn sich beispielsweise unter 10 Versuchspersonen gerade der Träger des Minimal- oder Maximalwertes befinden würde. Nicht selten haben wir bei Durchsicht der Literatur feststellen müssen, daß einem aufgestellten oder zitierten Wert einige wenige Versuche zugrunde lagen. Die irrtümliche Erhebung eines in der Normbreite befindlichen Wertes in die Rangstellung eines Kardinalwertes bleibt solange ein harmloser Fehlgriff, als diese Werte nur als Grenzwerte zwischen Physiologischem und Pathologischem angesehen werden, denn da sie das Ergebnis weniger Versuche sind, werden sie fast immer innerhalb der Normbreite liegen und daher für die klinische Beurteilung eines Krankheitsfalles ohne Einfluß sein. Es könnte höchstens der Fall eintreten, daß ein zwischen irrtümlichem und wirklichem Maximalwert gefundener R.—N-

Wert Zweifel aufkommen ließe, ob der gefundene Wert als noch normal oder bereits pathologisch anzusehen wäre, aber da die Differenz nur gering sein kann, so wird der gefundene Wert in die um den Normbereich gezogene 10 % „neutrale Zone" fallen, innerhalb welcher man Werten vorsichtigerweise weder positive noch negative Beweiskraft beimessen wird. Anders verhält es sich, sobald man mit Grenz- oder Durchschnittswerten des R.—N und der R.—N-Bestandteile zu operieren beginnt, sobald man sie in Beziehung zueinander setzt, oder mit anderen Worten, sobald man diese Größen als in Wechselbeziehung zueinander stehende Produkte des intermediären Stoffwechselchemismus betrachtet. Addieren wir den Sa H.—N von Individuum A mit dem Sa A.—N von Individuum B, so erhalten wir, wenn auch nicht gerade den R.—N von A oder B, so doch immerhin einen Wert eines nierengesunden Individuums, vorausgesetzt natürlich, daß A und B Normalwerte hatten. Versuchen wir aber, aus dem H.—N-Gehalt von Individuum A, Aminosäurengehalt von Individuum B, Kreatinengehalt von Individuum C u. s. f. Rückschlüsse auf intermediäre Stoffwechselvorgänge zu ziehen, so werden wir zur Konstruktion eines Stoffwechselchemismus gelangen, der weder dem von A, noch von B, noch irgend einem anderen dieser Gattung zugehörigen Individuum entspricht. Wir gelangen lediglich zu einer Fiktion, die auf der unbewußt akzeptierten irrigen Hypothese fundiert, daß Zwischen- oder Endprodukte des Stoffwechsels verschiedener Individuen, in irgendwelche Beziehung zueinander gesetzt, über den intermediären Stoffwechselchemismus der Gattung mehr als nur qualitative Erkenntnisse vermitteln könnten. Nur die quantitative Aufteilung des R.—N in seine einzelnen Bestandteile aus ein und demselben Blut — auch nicht zu verschiedenen Tageszeiten entnommenes Blut ein und desselben Individuums — kann geeignet sein, uns über intermediäre Stoffwechselvorgänge im Stickstoffhaushalt der jeweiligen Gattung näheren Aufschluß zu geben. [1]) Erst dann können wir mit Recht von einer „Fraktionierung" des R.—N sprechen.

V.

Die der naturgesetzlichen Betrachtungsweise entlehnte Vorstellung, die physiologische Gesetzmäßigkeit sei ebenfalls eine zwangsläufige Aufeinanderfolge von Ursache und Wirkung, trifft nicht zu. Zwischen beiden steht noch das die Toleranzschwelle des Individuums bewachende Regulativ, das die Ursachen nur als dem Organismus zuträgliche Einwirkungen passieren läßt. Tritt eine Störung der regulativen Tätigkeit des Organismus ein, wird das zwischen Ursache und Wirkung eingeschaltete Schutzfilter durch gesteigerte Inanspruchnahme

[1]) U. W. ist bis jetzt eine Fraktionierung des R.—N nur in Hauptfraktionen vorgenommen worden, so von Bang und Feigl.

oder durch die Schwere der Ursache insuffizient, so treten Ursache und Wirkung in unmittelbarere Beziehung, unterliegen nicht mehr den Gesetzen der Physiologie sondern der Pathologie. Aus Ursache wird aetiologisches Moment, aus Wirkung Symptom.

Ziehen wir die Nutzanwendung aus der vorausgegangenen Ueberlegung und konkretisieren wir die Begriffe „Ursache", „Wirkung" und „Regulativ" auf den Stickstoffhaushalt, so wird die Wirkung dargestellt durch den R.—N Spiegel des Blutes als Resultante zweier Komponenten, nämlich der Nahrungsaufnahme (Ursache) und des Stoffwechsels (Regulativ). Das anatomische Substrat des Regulativs ist einerseits die Leber als Entgiftungsorgan (Synthetisierung des durch Desaminierung der Aminosäuren abgespalteten Ammoniaks mit CO_2 zu Harnstoff) und andererseits die Niere als Ausscheidungsorgan (geringe N-Mengen werden auch mit Schweiß und Faeces ausgeschieden). Mit Ausnahme der alimentären Azotaemie ist jede R.—N-Erhöhung daher ein Hinweis auf eine gestörte Nieren- oder Leberfunktion oder die Folge von mit Eiweißzerfall einhergehenden Erkrankungen (Carcinom; Phtise). Letztere auf Eiweißzerfall beruhende Azotaemie kann bei intakter Leber- und Nierenfunktion eintreten, sie ist lediglich Ausdruck einer Ueberbelastung des Stoffwechsels mit Eiweißabbauprodukten, gehört also ihrem Character nach mehr der alimentären Form der Azotaemie an. Wir werden also genetisch 4 Arten der Azotaemie unterscheiden:

1. Die renale Azotaemie, eigentliche Retentions-Azotaemie (Hauptfraktion H.—N).
2. die hepatogene Azotaemie
3. die proteogene Azotaemie } (Hauptfraktion Sa A.—N).
4. die alimentäre Azotaemie (Hauptfraktion H.—N).

Daß Mischformen der ersten drei, besonders im Terminalstadium mit degenerativer Organveränderung, vorkommen können, bedarf nicht besonderer Erwähnung. Ausdrücklich betont muß aber werden, daß eine R.—N-Erhöhung im Blute ohne andere klinische Symptome über den Ursprung der Azotaemie nichts aussagt, es sei denn, daß der R.—N 120 mg übersteigt. In einem solchen Falle handelt es sich mit der größten Wahrscheinlichkeit um eine wirkliche Retention, um eine Azotaemie renalen Ursprungs, und zumeist wird man dann auch praeuraemische Symptome nachweisen können. R.—N-Werte unter 120 mg hingegen sind für keine der vier Azotaemien von pathognomonischer Eindeutigkeit. Form 3 und 4 wird man anamnestisch oder klinisch ausschließen können, Form 1 und 2 können aber sehr oft in die Differenzialdiagnose fallen und in solchen Fällen wird eine Harnstoffbestimmung nicht zu umgehen sein.

Zweck dieser Ausführungen ist es, zu zeigen, daß wir in der Bewertung von Ergebnissen aus dem Gebiete der Stickstoff-Forschung, je nachdem, ob wir rein klinische oder rein physiologische Erkenntnisse ableiten wollen, verschiedene Maßstäbe der Kritik anlegen müssen. Differenzen zwischen den im Blute wirklich vorhandenen und den bei bester Methodik erzielbaren Werte verlieren sich bei einer klinischen Stickstoffbestimmung im Normbereich. Bei Bestimmungen jedoch, die zur Klärung von Zusammenhängen zwischen Nahrungsaufnahme, Abbau, Umwandlung, Aufbau und Ausscheidung beitragen sollen, verlieren Begriffe wie Normbereich, Proximalwert, Minimalwert, Maximalwert und Durchschnittswert ihre Rechtsgültigkeit. Hier wird Differenz zu einem die Stoffwechselbilanz verschleiernden Defizit, da es unmöglich sein wird, das artifizielle Defizit von dem auf Eiweißansatz beruhenden physiologischen bei negativer Bilanz zu scheiden. Nehmen wir beispielsweise eine Doppelbestimmung des R.—N nach Kjeldahl vor und enteiweißen bei Bestimmung 1 mit Phosphorwolframsäure, bei Bestimmung 2 mit Trichloressigsäure, so erhalten wir mehr oder weniger unterschiedliche Resultate. Angenommen 25 und 30 mg. Klinisch bleibt diese Differenz ohne Einfluß. Wollen wir jedoch aus diesen Werten Rückschlüsse auf intermediäre Stoffwechselvorgänge ziehen, so dürfen wir diesen weitherzigen klinischen Maßstab nicht anlegen, sondern müssen die für diese Differenz verantwortlichen Ursachen aufzufinden versuchen. Diese Differenz kommt nämlich dadurch zustande, daß die Phosphorwolframsäure im Gegensatz zur Trichloressigsäure auch Peptone und Eiweißzerfallsprodukte ausfällt, also einen niedrigeren Stickstoffwert liefert als die Trichloressigsäure. Das Nichteiweißfiltrat 1 weist also dem Filtrat 2 gegenüber ein N-Defizit von 5 mg auf, das auf Konto der angeführten Stoffe zu setzen ist. In Unkenntnis einer solchen Tatsache wird man bei der gewichtsanalytischen Aufteilung des R.—N zu Werten gelangen, die von den wirklichen mehr oder weniger abweichen, denn es darf zudem nicht vergessen werden, daß nicht alle Fraktionen der direkten Bestimmung zugänglich sind, sondern daß einige auf Umwegen über eine oder mehrere andere Fraktionen indirekt errechnet werden. Nehmen wir z. B. an, der Sa H.—N betrage bei beiden Bestimmungen 12,5 mg, so gelangen wir zu folgenden Schlußfolgerungen:

Der Sa H.—N verhält sich zum Sa A.—N wie
12,5 : 12,5 bei Bestimmung 1 und wie
12,5 : 17,5 bei Bestimmung 2.

Oder im R.—N 1 sind enthalten
50 % Sa H.—N und 50 % Sa A.—N,
im R.—N 2

41,7 Sa H.—N und 58,3 % Sa A.—N.

Bedenken wir zudem noch, daß die Differenz bei Nierengesunden bis zu 10 mg betragen kann, so erhalten wir Verhältniszahlen von 1 : 1 bei Bestimmung 1 und von 1 : 1,8 (!) bei Bestimmung 2. Und in dieser Breite bewegen sich auch die Angaben über den Anteil von Sa H.—N und Sa A.—N am R.—N, je nachdem, welcher Enteiweißungsmethode der Autor den Vorzug gegeben hat. Die N-Differenz zwischen Trichloressigsäure- und Phosphorwolframsäure-Filtrat benutzt A. Hahn als Diagnostikum bei Erkrankungen mit parenteralem Eiweißzerfall. Das Prinzip der Methode ist das gleiche, welches Bang zur Bestimmung von Albumosen angewandt hat, mit dem Unterschied, daß Bang zur Enteiweißung Phosphormolybdän- und Metaphosphorsäure benutzt hat. Die Differenz bezeichnet Hahn als „Doppelstickstoff" („D.—N").

VII.

Eine andere Frage ist die, welche Enteiweißung nun die „richtige" ist. Diese Frage ist geradezu von entscheidender Bedeutung und kann nicht ausführlich genug behandelt werden. Daß eine unvollständige, reversible oder Nichtproteine mit sich reißende Eiweißfällung bei dem hohen N-Gehalt minimaler Eiweißmengen die nachfolgende Bestimmung illusorisch macht, sollte eigentlich einleuchten. M. von Krogh, Richter-Quittner, J. Feigl, A. Hahn, F. Fonseca, Sjollema u. Hetterschy, F. Himmerich u. a. haben bereits nachdrücklichst auf die Wichtigkeit einer exakten Enteiweißung hingewiesen. Trotzdem wird diesem wichtigsten Punkte der N-Bestimmung immer noch zu wenig Beachtung geschenkt.

Es kann natürlich nicht gleichgültig sein, ob in dem einen Falle mit heißer überkonzentrierter Essigsäure, in dem anderen Falle mit einer Mischung eines Schwermetallsalzes mit einem Alkaloidreagens enteiweißt wird; ob nur die Albumine und Globuline koaguliert oder ob auch Albumosen, Peptone und andere Eiweißabbaustoffe mitgefällt werden; ob sich bei der Eiweißfällung lösliches Acidalbumin bildet und dadurch die Koagulation zum Teil reversibel wird, oder ob ein Schwermetallsalz neben seiner koagulierenden Eigenschaft auch die hat, Harnstoff, Nukleinsäuren, Phosphatide, Purinbasen, Kreatinin, stickstoffhaltige Extraktiv-Stoffe, niedere Eiweißspaltprodukte, Amide und Alkaloide mit sich zu reißen, wie z. B. eine Mischung von Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure. Die chemische Natur des Reagens, seine physikalischen Eigenschaften, seine Konzentration und Temperatur spielen bei der Enteiweißung eine wichtige Rolle. Folgende Zusammenstellung gibt einen Ueberblick über die gebräuchlichsten Enteiweißungsmethoden:

1. Koagulation in der Siedehitze bei schwachsaurer Reaktion.

   Nachteile: Gefahr der Bildung von Acidalbuminen und Entstehung von Umwandlungsprodukten durch die hohe Temperatur.

2. Koagulation durch Schwermetallsalze wie Quecksilberchlorid, Eisenchlorid, Eisenacetat, Kupfersulfat, Bleiacetat, Zinkacetat, Uranylacetat u. a. m. bei schwachsaurer Reaktion und genügender Verdünnung der Eiweißlösung (ca. 0,5 %).

   Nachteile: Durch die Eigenschwere der Schwermetallsalze werden verschiedene Nichteiweißstoffe mitgerissen. Das exakte quantitative Arbeiten wird durch die stark verdünnte Eiweißlösung sehr erschwert. Bei vielen dieser Schwermetallsalzen muß noch ein Auswaschen des Niederschlages vorgenommen werden, mitunter sogar unter Siedehitze.

3. Koagulation durch Alkaloidreagentien wie Phosphormolybdänsäure, Metaphosphorsäure, Natriumwolframat, Trichloressigsäure, Ferrocyanwasserstoffsäure u. a.
4. Koagulation durch Schwermetall-Alkaloidgemische wie Mercuri- oder Bleiacetat mit Phosphorwolframsäure.
5. Enteiweißung nach Michaelis-Rona durch Kolloide oder Suspensionen wie Kaolin, Mastix, Eisenhydroxyd u. a.

   Nachteile: Gefahr der Absorption von Harnstoff.

6. Enteiweißung durch Ultrafiltration, Dialysierverfahren nach Bechhold (Apparat nach Szigmondy). Dieses Verfahren beruht auf der Eigenschaft der Kolloidmembranen, für Wasser und Kristalloide durchlässig zu sein und kolloidale Stoffe zurückzuhalten.

Ein Blick auf diese Zusammenstellung, auf die Mannigfaltigkeit der angewandten Enteiweißungsmethoden, auf die Verschiedenheit des chemischen Charakters der Eiweißfällungsmittel wird unsere Behauptung verständlich machen, daß in dem Enteiweißungsverfahren die hauptsächlichste Fehlerquelle verborgen liegt. In den letzten Jahren bricht sich jedoch die Erkenntnis immer mehr Bahn, daß für die engere Wahl einer exakten Enteiweißung drei Methoden in Betracht kommen:

1. das Dialysierverfahren,
2. die Enteiweißung durch Zusatz von Kolloiden oder Suspensionen,
3. die Koagulation durch Alkaloidreagentien.

Die ersten zwei Enteiweißungsarten haben sich bis heute im klinischen Betriebe nicht einbürgern können, obwohl die Vorzüge dieser beiden Methoden, ein von jeglichem Zusatz frei-

es Filtrat zu liefern, nicht zu verkennen sind. Allerdings können auch die Bedenken, die gegen diese beiden Methoden erhoben worden sind, nicht widerlegt werden, nämlich, daß beim ersteren Verfahren durch ein während der Dialyse sich bildendes Kolloidhäutchen, das die Innenseite des Diffusionsschlauches auskleidet, die Durchlässigkeit der Kolloidmembran für kristalloide Stoffe eine geringere wird, beim zweiten Verfahren Nichteiweißstoffe durch Kolloid- oder Suspensionszusätze absorbiert werden. Weitere Untersuchungen werden zu entscheiden haben, ob diese beiden Verfahren den Vorrang vor der Enteiweißung mit Alkaloidreagentien verdienen.

Von den Alkaloidreagentien ist es besonders die Trichloressigsäure, die in einer Konzentration von 2,5—5 % in den letzten Jahren immer mehr empfohlen wird. Sie ist das einzige bekannte Alkaloidreagens, das Peptone und Eiweißabbaustoffe nicht mitkoaguliert. Zwar besitzt die Cyanwasserstoffsäure die gleiche Eigenschaft, läßt auch die Albumosen unberührt, aber vor ihrer Anwendung wird gewarnt, da ihre Einwirkung nicht ganz indifferent sein soll. (Entstehung von Cyanverbindungen ?).

Umstritten ist ferner die Frage, ob die Eiweißfällung zum Zwecke der R.—N-Bestimmung auch Albumosen, Peptone und Eiweißabbaustoffe einbeziehen soll. Dem Begriffe „Nichteiweißstickstoff" entspräche es allerdings mehr, wenn diese eiweißähnlichen Stoffe im Filtrat verblieben. Durch das Ueberführen dieser Stoffe in den Filtratrückstand, die, vermehrt, Ausdruck pathologischer Stoffwechselvorgänge sind, geben wir ohne zwingenden Grund ein diagnostisches Hilfsmittel zur Feststellung nichtrenaler Azotaemien aus der Hand. Wenn wir auch vorerst noch kein Eiweißfällungsmittel von der Eigenschaft besitzen, Albumosen, Peptone und die noch unbekannten Eiweißzerfallsprodukte von der Koagulation auszuschließen, so kommt doch die Trichloressigsäure, die nur die Albumosen mitfällt, dieser Forderung am nächsten. Hat man sich aber einmal den Standpunkt zu eigen gemacht, daß Eiweißstoffe nicht identisch sind mit eiweißähnlichen Stoffen, so wird man auch zu dem Schluß kommen, daß diejenige Enteiweißungsmethode den Vorzug verdient, die den höchsten N-Wert liefert, vorausgesetzt natürlich, daß die Höhe des Wertes nicht auf die bereits unter Enteiweißungsmethoden erwähnten Mängel zurückzuführen ist.

VIII.

Es ist klar, daß man die für die unbefriedigenden Resultate verantwortlich zu machenden Ursachen aufzufinden versuchte. Eine Kritik der Methodik setzte ein, in der Hauptsache die Erschließung des Stickstoffs betreffend, die Ueberführung desselben und dessen Bestimmung durch Titration, Colorimetrie, volumetrische oder manometrische Messung. Das Eiweiß-

filtrat sah man seltsamerweise als das Gegebene, als etwas von der Methodik Unberührtes, Unverändertes an, in Wirklichkeit war es aber durch eine der vielen Enteiweißungsarten bereits verändertes Untersuchungsmaterial. Das zahlenmäßige Mißverhältnis zwischen Bestimmungsmethoden und Bestimmungsprinzipien, die große Zahl modifizierter Apparate und Apparaturen beweisen am besten die technischen Schwierigkeiten. Von den vielen der Beachtung empfohlenen Punkten wollen wir nur diejenigen herausgreifen, die Anspruch auf Allgemeingültigkeit erheben können, und von deren Wichtigkeit wir uns während 4 jähriger Beschäftigung mit dem Stickstoffproblem überzeugen konnten. Manche Punkte sind zwar Selbstverständlichkeiten, aber da ihre Bedeutung oftmals, besonders bei rein klinischen Bestimmungen, doch unterschätzt wird, wollen wir sie trotzdem aufzählen:

1. Das Untersuchungsmaterial muß in einem ammoniakfreien Raume aufbewahrt werden und darf nicht in der Nähe Ammoniak entwickelnder Reagentien oder Untersuchungsmaterialien stehen. Der Eisschrank der Klinik ist daher der ungeeignetste Platz dafür. Daß auch die Bestimmung selbst im ammoniakfreien Raume vor sich gehen muß, braucht eigentlich nicht besonders erwähnt zu werden.
2. Destilliertes Wasser und Reagentien sind von Zeit zu Zeit mit Neßlers Reagens auf Ammoniakfreiheit zu prüfen.
3. Apparatur und Glassachen sind vor jeder Bestimmung gründlich mit destilliertem Wasser zu reinigen, da sich an den Glaswandungen oft Ammoniumcarbonat ansetzt.
4. Der Luftstrom ist vor Passieren durch den Destillierkolben durch 10 % Schwefelsäure zu leiten, um noch etwa vorhandene Ammoniakspuren aufzufangen.
5. Der Luftstrom muß gleichmäßig und darf nicht zu stark sein. Bedingung ist daher eine gut funktionierende Wasserstrahlpumpe und eine gleichmäßige Wasserzuleitung. Eine Ungleichmäßigkeit des Wasserstromes kann durch Schaffung falscher Druckverhältnisse eine Verkehrung des Luftstroms zur Folge haben und dadurch einen mehr oder weniger großen Teil des Ammoniaks statt in die Vorlage in die 10 % Schwefelsäure treiben.
6. Die Veraschung soll über mäßiger Flamme im Sandbade erfolgen. Bei zu starker Flamme verdampft das Wasser, bevor sämtlicher Stickstoff in Ammonsulfat übergeführt ist.
7. Die Veraschung ist beendet, sobald die schwarze Farbe in eine grüngelbe übergegangen ist. Weiteres Erhitzen bis zur Farblosigkeit empfiehlt sich nicht, da das Ammonsulfat sonst Ammoniak abspalten kann.

8. Man beachte stets, wieviel Kjeldahlschwefelsäure man vor der Veraschung zugesetzt hat, um die Menge der später hinzuzusetzenden Natronlauge bemessen zu können, da das Ammoniak nur bei deutlich alkalischer Reaktion überdestilliert.
9. Zusätze zur Vermeidung des „Stoßens" während der Destillation sind nicht erforderlich, vielmehr gibt das Stoßen das Zeichen zur Beendigung der Destillation.
10. Die Anlage von Kühlröhren ist nicht nötig. Es genügt die Vorlage in kaltes Wasser zu stellen.
11. Bei Halbmikromethoden verwendet man am besten $\frac{n}{50}$ H_2SO_4 und $\frac{n}{50}$ NaOH. als Indikator Methylorange.
12. Die Normallösungen sind in kurzen Zeitabständen nachzuprüfen.

Von der Aufzählung der vielen anderen Punkte haben wir vor allem deshalb Abstand genommen, weil sie u. E. an falscher Stelle ansetzende Korrekturversuche darstellen. Unseres Erachtens liegen die Ursachen für falsche R.—N-Ergebnisse weder in der Apparatur noch in der Ausführung der Bestimmung, sondern in einer Richtung, die wir bereits angedeutet haben. Keine noch so spekulative Ueberlegung, keine technisch noch so geschickte Modifikation, keine dem Auge noch so wohlgefällige Apparatur wird die Ursachen für die unterschiedlichen Resultate abstellen können, wenn übersehen wird, daß in dem einen Falle mit heißer überkonzentrierter Essigsäure, in dem anderen Falle mit einer Mischung von Schwermetallsalz und Alkaloidreagens enteiweißt worden ist. Eine Nichtbeachtung dieses Punktes von fundamentaler Wichtigkeit muß zu Fehlschlüssen führen. Der Ersinner einer Methode oder Modifikation, der die Enteiweißung dem Belieben jedes einzelnen anheimstellt, darf sich eigentlich nicht wundern, wenn seine Methode oder Modifikation, mit der er vielleicht gute Resultate erzielt hat, abgelehnt wird. Wer sich mit dem Problem der Enteiweißung befaßt hat und weiß, wieviel Enteiweißungsarten angewandt werden, dem wird es nicht zweifelhaft sein, daß in der Enteiweißung die Quelle der meisten Unstimmigkeiten zu suchen ist.

IX.

Im Verlauf unserer Ausführungen haben wir bereits die Frage behandelt, ob eine R.—N-Bestimmung ohne andere klinische Erhebungen ausreicht, Ursache der Azotaemie und somit Art der Erkrankung festzustellen. Bei Azotaemien schweren Grades haben wir diese Frage bejaht. Bei Azotaemien leichteren oder mittleren Grades wird man, wie wir bereits gezeigt haben, eine Harnstoffbestimmung nicht umgehen können.

Von allen Methoden, die zur Bestimmung des H.—N bezw. des Sa H.—N angegeben worden sind, sind die Bromlaugemethoden die relativ einfachsten und liefern durchaus brauchbare Resultate. Sowohl die Methode, Extraktion des Harnstoffs mit anschließender N-Bestimmung nach Kjeldahl als auch die Ureasemethode sind für klinische Methoden zu kompliziert. Erstere erfordert zu viel Zeit und ist auch ohnedies ziemlich umständlich, letztere hinwieder birgt soviel Tücken, daß wir sie dem Kliniker guten Gewissens nicht empfehlen können. Wasserstoffionenkonzentration, Temperaturoptimum, Ammoniakhaltigkeit der Urease, Abschwächung, ja Aufhebung der Fermentwirkung durch Verunreinigung mit Metallen wie Kupfer, Eisen, Quecksilber u. a. m. sind einige der Tücken, die ein Bild von der Labilität dieser Methode geben sollen.

Allen Bromlaugemethoden liegt das Prinzip zugrunde, daß sich bei der Einwirkung des in der Bromlauge befindlichen Natriumhypobromits ($2\,NaOH + Br_2 = NaBrO + NaBr + 2\,H_2O$) auf Harnstoff oder auch auf Ammoniumsalze der Stickstoff ausgetrieben wird, gemäß der Formel:

$$3\,NaBrO + CO(NH_2)_2 = 3\,NaBr + 2\,H_2O + CO_2 + N_2.$$

Je nachdem nun, ob man den Stickstoff direkt volumetrisch oder manometrisch mißt oder ihn indirekt aus der gleichzeitig entwickelten Kohlensäure bestimmt oder aus der Differenz zwischen überschüssiger Natronlauge vor und nach der Reaktion, teilt man die Bromlaugemethoden ein in

1. Volumetrische oder azotometrische Bromlaugemethoden,
2. Manometrische Bromlaugemethoden,
3. Acidimetrische Bromlaugemethoden,
4. Alkalimetrische Bromlaugemethoden.

Von all diesen Methoden ist die volumetrische die exakteste. Zur Messung des N—Volumens ist eine große Zahl von Apparaten angegeben worden (etwa 50), so von Yvon, Ambard, Gallion, Davy, Borodin, Knop-Huefner, Leser-Siebeck, Gad-Andresen, Kowarski u. v. a. Die älteren Apparate sind für die Bestimmung des Harnstoffs im Blute fast alle ungeeignet, da sie für Harnstoffbestimmungen im Harne konstruiert worden sind. Sie erfordern zu große Blutmengen, manche von ihnen besitzen zudem noch Metall- und Gummiteile, was sich als sehr unzweckmäßig erwiesen hat. Von den neueren Apparaten fällt das Kowarskische Ureometer durch die Einfachheit seiner Konstruktion und Handhabung auf. Außerdem erfordert es geringe Blutmengen, sodaß auch Kontrollversuche angestellt werden können. Bedenkt man, daß in Säuglings- und Kinderkliniken eine Stickstoffbestimmung mitunter lediglich an dem Umstand scheitert, daß wir bei der Blutentnahme der kleinen Patienten (Frühgeburten!) zu ge-

ringe Blutmengen erhalten, so wird man diesen Vorteil richtig einschätzen können. Ein weiterer Vorteil ist der, daß eine Ablesung des N-Volumens bis zu 0,01 ccm möglich ist.

X.

Von einer Beschreibung des Kowarskischen Apparates und Ausführung der Bestimmung können wir absehen [1]). Wir wollen nur auf die Berechnung etwas näher eingehen, weil sie zum Verständnis, wie wir zur Aufstellung unserer Konstante 0,045 gelangt sind, notwendig ist. Nach Kowarski erfolgt die Berechnung so, daß das gefundene N—Volumen mit einem Faktor multipliziert wird, der im Schnittpunkt von Druck- und Temperaturkolumne aus der von Kowarski aufgestellten Tabelle ermittelt wird. Das Produkt ergibt Harnstoff in Grammen pro Liter Untersuchungsmaterial. Will man den Harnstoffstickstoff in 100 ccm wissen, wie z. B. bei fast allen klinischen Bestimmungen, so muß der gefundene Wert nochmals mit $\frac{7}{15}$ multipliziert und das Ganze durch 10 dividiert werden. Diese Berechnung aber hat eine Voraussetzung zur Bedingung, nämlich, daß nicht mehr und nicht weniger als 1,25 ccm Untersuchungsmaterial zur Bestimmung gelangen darf. Unsere Formel

$$\text{mg H.—N pro 100 ccm} = \frac{V \cdot p \cdot 0{,}045}{M \cdot T}$$

wobei V das Stickstoffvolumen, M die Menge des Untersuchungsmaterials, p Druck und T absolute Temperatur bedeutet, bietet den Vorteil, daß man die Kowarskische Tabelle nicht benötigt und von der Menge des Untersuchungsmaterials unabhängig ist. Gerade letzter Umstand ist praktisch von Wichtigkeit, da es oftmals nicht gelingt, aus der bei Säuglingen oder Frühgeburten entnommenen Blutmenge 1,25 ccm Serum zu gewinnen. Tabelle IV zeigt, daß die Menge von 1 ccm Serum noch brauchbare Resultate liefert. Für Mengen unter 1 ccm ist der Apparat nicht fein genug. Die Resultate sind zu ungenau, sodaß wir sie nicht aufgeführt haben. Unsere Formel stellt letzten Endes nichts anderes als eine Weiterung der Kowarskischen Berechnungsformel

V × F (Volumen × Faktor) = gr Harnstoff pro Liter

dar, oder präziser ausgedrückt, eine Formel, die den mg-Gehalt Harnstoff-Stickstoff pro 100 ccm ergibt, die die Menge des Untersuchungsmaterials gleich von vornherein in Berücksichtigung zieht, und in welcher der Faktor in seine einzelnen Komponenten aufgeteilt ist. Die bei jeder Berechnung stets

---

[1]) Die Originalarbeit ist in der Wochenschrift für praktische Aerzte, „Medizinische Klinik", Jahrg. 1921 Nr. 30, erschienen. Der Apparat ist bei E. Leitz, Berlin, Luisenstr. 45, erhältlich.

wiederkehrenden gleichen Zahlen wurden zu einer Konstanten zusammengezogen, um so die Tabelle entbehrlich zu machen.

Zur Aufstellung unserer Formel war es nötig, zuerst die Zahl resp. Konstante zu ermitteln, die zu Druck und Temperatur in Beziehung gesetzt, den jeweiligen Tabellenfaktor ergibt. Dieser ist nicht identisch mit dem Reduktionsfaktor auf, 0° und 760 mm Hg, sondern stellt seinerseits wieder das Produkt aus 4 Faktoren dar, nämlich, erstens aus dem Faktor, der das gefundene N-Volumen auf 0° und 760 mm Hg reduziert (berechnet nach dem Gay-Lussac und Boyle-Mariotte'schen Gesetz), zweitens aus dem Faktor, der das Gewicht des reduzierten N-Volumens ermittelt (berechnet aus dem spezifischen Gewicht von N), drittens aus dem Faktor, der die Gewichtsmenge N pro 1 l Untersuchungsmaterial ergibt (berechnet aus der zur Bestimmung gelangten Menge Untersuchungsmaterial von 1,25 ccm) und viertens aus dem Faktor, der den Promille-Gehalt N in Promille-Gehalt Harnstoff umwandelt berechnet aus der Proportionsgleichung

$$N : CO(NH_2)_2 = 14 : 60$$

Wir kommen nunmehr zur eigentlichen Ableitung:

$$V \cdot F = {}^{0}/_{00}\ Ur$$

Reduzieren wir V auf V_0, d. h. auf 760 mm Hg (p_0) und 0° (t_0) mittels der zusammengezogenen Gay-Lussac-Boyle-Mariotte'schen Formel

$$pV = \frac{p_0 V_0 T}{273}$$ so erhalten wir für

$$V_0 = \frac{pV\ 273}{p_0\ T},$$ wobei T gleich absolute Temperatur bedeutet = 273 + t.

Das Gewicht von V_0 beträgt, da 1 lN 1,25 gr wiegt,

$$V_0 \cdot \frac{1{,}25}{1000} \text{ oder } \frac{p\ V\ 273}{p_0\ T} = \frac{1{,}25}{1000}$$

Rechnen wir nun das Gewicht des reduzierten N-Volumens von 1,25 ccm Untersuchungsmaterial auf 1 l desselben um, so ergibt sich für gr N pro l

$$\frac{p\ V\ 273}{p_0\ T} \cdot \frac{1{,}25}{1000} \cdot \frac{1000}{1{,}25} = \frac{p\ V\ 273}{p_0\ T}$$

und für gr $CO(NH_2)_2$ pro l

$$\frac{p\ V\ 273}{760\ T} \cdot \frac{15}{7} = \frac{p\ V}{T} \cdot 0{,}77$$

$$\frac{p}{T} \cdot 0{,}77$$

ist also der Kowarki'sche Tabellenfaktor, 0,77 die Konstante, oder in Worten ausgedrückt: Der Kowarski'sche Tabel-

lenfaktor ist das Produkt aus Konstante 0,77 und Druck-Temperaturquotienten.
Meistens verhält es sich so, daß nicht der Harnstoffgehalt pro l interessiert, sondern der Harnstoff-N-Gehalt pro 100 ccm. Bezeichnen wir $\frac{p}{T}$ 0,77 wieder mit F, so erhalten wir die Umwandlungsformel

$$H.-N = \frac{V\ F}{10} \cdot \frac{7}{15}$$

die, mit $\frac{1{,}25}{X \text{ ccm Serum}}$ multipliziert, auch gleichzeitig die der Bestimmung zugeführte Serummenge berücksichtigt. Die Schlußformel würde dann lauten, wenn wir statt F wieder $\frac{p}{T} \cdot 0{,}77$ setzen und die Menge des Untersuchungsmaterials, ob es nun Harn, Blut oder Liquor ist, mit M bezeichnen:

$$H.-N = \frac{V}{M} \cdot \frac{p}{T} \cdot 0{,}77 \cdot 0{,}058 = \frac{V\ p}{M\ T} \cdot 0{,}045$$

oder in Worten: Das Produkt von Volum-Menge- und Druck-Temperaturquotienten, multipliziert mit der Konstanten 0,045, ergibt mg H.—N pro 100 ccm. Angenommen das gefundene N—Volumen von 1,0 ccm Untersuchungsmaterial sei bei einem Barometerstand von 755 mm Hg und einer Temperatur von 18° C 0,3 ccm, so erhalten wir durch Einsetzen dieser Werte in die Formel

$$H.-N = \frac{V\ p \cdot 0{,}045}{M\ T} = \frac{0{,}3 \cdot 755 \cdot 0{,}045}{1{,}0 \cdot 291} = 35{,}02 \text{ mg},$$

nach der Kowarskischen Tabelle aber nur 34,30 mg, eine Differenz also von 0,72 mg. Wir haben daraufhin die Kowarskische Tabelle einer Nachprüfung unterzogen und festgestellt, daß sämtliche Faktoren um 0,03 oder 0,04 zu klein sind und einen ca. 2 % unterwertigen Fehler ergeben. Dieser Fehler beruht darauf, daß Kowarski die Tabellenkonstante mit 0,76 errechnet hat, während sie genau 0,7697 lautet, die Abrundung nach oben also unterlassen worden ist. Praktisch ist dies jedoch ohne Belang, da die Differenz zu gering ist.

XI.

Es hat nicht an kritischen Stimmen gefehlt, die alle Harnstoffmethoden, sofern sie sich des Bromlaugeprinzips bedienten, generell ablehnten. Veranlassung zur Einnahme dieses ablehnenden Standpunktes gaben die stark differierenden Resultate der Bromlaugemethoden untereinander als auch anderen Harnstoffbestimmungsmethoden gegenüber. Die verschiedensten Deutungsversuche füllen die ziemlich ansehnliche Spezialliteratur über Bromlaugemethoden. Nicht weniger als

50 angegebene Bromlaugen legen Zeugnis ab von den vielen mißglückten Versuchen, durch Konzentrationsänderung derselben die mutmaßliche hauptsächlichste Fehlerquelle zu beseitigen. Und wenn auch erwiesenermaßen ein Zusammenhang zwischen Bromlauge-Konzentration und Stickstoffausfall besteht, so kann diese Tatsache höchstens zur Erklärung kleiner, unterwertiger Fehler herangezogen werden, nicht aber zur Erklärung der oft beträchtlich hohen uberwertigen Fehler.

Mit großer Uebereinstimmung konnte festgestellt werden, daß selbst bei Gebrauch der stickstoffergiebigsten Bromlauge bis 5 % Stickstoffausfall zu verzeichnen ist, sodaß sich folgerichtig 2 Annahmen aufdrängten:

1. Daß die Einwirkung der Bromlauge auf Harnstoff durch ungünstige Reaktionsbedingungen abgeschwächt wird und
2. daß der chemische Verlauf der Reaktion zwischen Bromlauge und Harnstoff nicht der üblichen Auffassung

$$3\ Na\ BrO + CO(NH_2)_2 = 3\ Na\ Br + CO_2 + 2\ H_2O + N_2$$

entspricht.

Letztere Annahme wird von einigen namhaften Forschern vertreten, die für ihre Auffassung auch experimentelle Belege beibringen und deren Darlegungen in der Behauptung gipfeln, daß der Stickstoffausfall auf Bildung von Cyanverbindungen zurückzuführen sei. Die allgemein anerkannte Strukturformel für Harnstoff

$O = C \begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix}$ wurde durch die Wernersche Strukturformel

$HN = C \begin{matrix} NH_2 \\ O \end{matrix}$ ersetzt und zur Erklärung eines anderen

Reaktionsverlaufs herangezogen. Im Gegensatz zu dieser Auffassung vertreten Treadwell, Margosches und Rose den Standpunkt, daß der Stickstoffausfall auf die niedrige Temperatur der in Anwendung kommenden Bromlauge zurückzuführen sei. Durch Versuche weisen Margosches und Rose nach, daß bei heißer Bromlauge die Reaktion nach der allgemein anerkannten Formel quantitativ verläuft und ein N-Ausfall nicht zu verzeichnen ist. Zu dieser Ueberzeugung gelangten sie auf Grund ihrer alkalimetrischen Bromlaugemethode, bei welcher die Reaktion in einem heißen Gemisch vor sich ging. Margosches und Rose haben den Stickstoffausfall bei Anwendung kalter Bromlauge auf bis etwa 45% veranschlagt. Dies scheint uns doch bei weitem zu hoch zu sein. Zu diesem hohen Prozentsatz kamen sie, weil sie mit einer Normal-Bromlauge arbeiteten, also mit einer Konzentration, die zur Stickstoffaustreibung nie angewandt worden ist. Selbstverständlich kann man den N-Ausfall durch Verringerung der Konzentration ad infinitum steigern. Noch vor Kenntnis der Arbeiten von Treadwell, Margosches und Rose hat-

ten wir im Verfolg unserer Arbeiten zu einer colorimetrischen Bromlaugemethode, bei der auch wir mit schwachkonzentrierten Bromlaugen arbeiten mußten, die gleiche Feststellung gemacht und arbeiteten demzufolge mit heißer Bromlauge. Um die Abhängigkeit der N-Entwicklung von Konzentration und Temperatur und somit auch den N-Ausfall zu beweisen, bedarf es keiner komplizierten zeitraubenden Versuche. Gießt man zu etwa 2 ccm einer 3 % Harnstofflösung die gleiche Menge einer schwachkonzentrierten kalten Bromlauge, so bemerkt man unter Abnahme ihrer charakteristischen grüngelben Farbe ein Aufperlen (N-Entwicklung). Hat man sich durch wiederholtes Schütteln überzeugt, daß die Reaktion beendet ist, so wird das Gemisch erhitzt. Sofort setzt die Reaktion von neuem ein. Der gleiche Effekt wird natürlich auf Zusatz eines Tropfens Brom erzielt (Steigerung der Konzentration). Vorbedingung für letzteren Versuch ist, daß man keine zu schwache Natronlauge nimmt, weil sonst zu wenig NaOH-Moleküle zur Bindung des Broms zu NaBrO vorhanden sind.

Während es sich bei Erhöhung der Bromlaugekonzentration im Wesen um nichts anderes handelt, als um eine Vermehrung des Inhalts der Bromlauge an NaBrO, so haben wir für die gesteigerte N-Entwicklung durch Temperaturerhöhung in der Literatur keine ausreichende Erklärung finden können. Die nachfolgend niedergelegten Gedankengänge stellen einen Versuch dar, auf Grund einer ganz bestimmten Auffassung von der Natur der Bromlauge und des Harnstoffs eine Erklärung für den durch Temperaturerhöhung zu beseitigenden N-Ausfall zu geben. Wir schicken voraus, daß wir diese Darlegungen, da sie durch exakte Experimente nicht genügend gestützt sind, lediglich als Hypothese zur Diskussion gestellt wissen möchten.

XII.

Wir vertreten die Ansicht, daß es sich bei allen Bromlaugen, sofern sie die characteristische grüngelbe Farbe haben (bei höheren Konzentrationen dominiert die gelbe Komponente), um gesättigte Natriumhypobromitlösungen handelt. Das würde mit anderen Worten heißen, daß das zur Natronlauge zugesetzte Brom nur soviel NaBrO bildet, als die nicht zur Bildung von NaBrO verbrauchte überschüssige NaOH bei bestimmter Temperatur und bestimmtem Druck aufzunehmen bezw. zu lösen vermag, und daß das überschüssige freie, nichtgebundene Brom das Farbagens ist und nicht das NaBrO. Dafür spricht auch, daß die durch Erhitzen abgenommene Farbintensität beim Erkalten wieder zunimmt (allerdings kann man diesen feinen Unterschied nur kolorimetrisch wahrnehmen). Die Abnahme der Farbintensität beim Erhitzen beruht in diesem Falle also nicht darauf, daß freies Brom austritt, sondern darauf, daß es in gebundenen Zustand übergeht, zur aktiven

Masse übertritt. Erhitzen und Wiedererkalten der Bromlauge stellen aber einen Vorgang von relativ kurzer Reaktionsdauer dar, sodaß über die Möglichkeit des Entweichens freien Broms nichts ausgesagt werden kann. Nehmen wir beispielsweise eine 2—5 Tage lang gestandene Bromlauge, so können wir schon mit bloßem Auge eine beträchtliche Abnahme der Farbintensität feststellen. Diese Bromlauge ist nun, wie Solowjew nachgewiesen hat, entgegen der bisherigen Annahme stickstoffergiebiger als eine frisch zubereitete, mit Ausnahme der im „Status nascendi". Allerdings ist die Steigerung der Stickstoffergiebigkeit geringer als es der Farbabnahme entsprechen würde, sodaß wohl auch mit Sicherheit anzunehmen ist, daß bei längere Zeit gestandenen Bromlaugen freies Brom austritt. Aus diesen Ueberlegungen geht jedenfalls zweierlei hervor: 1. Daß die Farbtiefe der Bromlauge ohne Berücksichtigung des Alters derselben über deren Stickstoffergiebigkeit nichts aussagt, was für kolorimetrische Messungen von Wichtigkeit ist, 2. Daß nicht das unterbromige Natrium sondern das in der Natronlauge gelöste freie Brom der farbbildende Bestandteil ist.

Da eine Steigerung der Stickstoffergiebigkeit letzten Endes nichts anderes bedeutet als eine Zunahme der Bromlauge an NaBrO-Molekülen, diese aber von außen her nicht mehr zugeführt worden sind, so muß es sich bei der Bromlauge um ein in einem labilen chemischen Gleichgewichtszustand befindliches und bis zu einem gewissen Grade in freie Atome dissoziiertes System handeln. Daß es sich um eine elektrolytische Dissoziation mit freien Jonen handelt, ist bei der starken Konzentration der Lauge wohl nicht anzunehmen. Wir hätten also in der Bromlauge sowohl in freie Atome dissoziierte Moleküle, sogenannte aktive Masse, als auch undissoziierte Moleküle, inaktive Masse. Das Brom wäre demnach in dreifacher Eigenschaft vorhanden: Erstens als Brommolekül, zweitens als gebundenes und drittens als freies Bromatom. Reaktiv ist aber nur das freie Bromatom, während Brommolekül und gebundenes Bromatom zur inaktiven Masse, zur Reserve gehören. Tritt nun durch Temperaturerhöhung eine stärkere Dissoziation ein, so erfolgt eine Verschiebung des Gleichgewichtszustandes zur Seite der freien Atome, der aktiven Masse, hin. Die Wärmezufuhr beschleunigt also den Vorgang der Umwandlung von inaktiver zu aktiver Masse. So wird es auch verständlich, warum über 2 Tage alte Bromlauge stickstoffergiebiger ist als eine frisch zubereitete (die Wärmezufuhr wird hier durch die Reaktionsdauer ersetzt). Daß nach dem 5 ten Tag die Wirksamkeit der Bromlauge wieder abnimmt (Solowjew) liegt wohl daran, daß durch Entweichen freien Broms die Reserve der inaktiven Masse an Brom erschöpft worden ist.

Wenn wir bis nun von einer größeren stickstoffreimachenden Wirksamkeit stärker dissoziierter Bromlaugen gesprochen haben, so muß insofern eine Einschränkung gemacht werden, als diese Wirksamkeit sich nicht auch auf den Stickstoff des Ausfallanteils erstreckt. Nehmen wir z. B. eine 2 Stunden gestandene Bromlauge von einer 50% stickstoffreimachenden Eigenschaft pro ccm, gemessen an 1 ccm einer 10% Harnstofflösung, so wird diese Bromlauge imstande sein, aus der gleichen Menge dieser Harnstofflösung die Hälfte des in ihr enthaltenen Stickstoffs auszutreiben. Dieselbe Bromlauge, 3 Tage gestanden, wird etwas mehr als die Hälfte entwickeln, weil sie in der Zwischenzeit stärker dissoziiert ist. Nehmen wir nunmehr kürzere oder längere Zeit gestandene Bromlauge von doppelter, ja sogar mehrfacher Stärke, so wird nicht, wie man erwarten sollte, sämtlicher Stickstoff ausgetrieben, sondern es bleibt immer ein Rest zurück, den man in der Literatur als N-Ausfall bezeichnet. Daraus geht hervor, daß die Konzentration resp. der Dissoziationsgrad der Bromlauge auf den N-Ausfall ohne Einfluß ist, sodaß der verantwortliche Faktor u. E. nur noch in der Harnstofflösung selbst gesucht werden kann.

Wir sind auf die chemische Natur der Bromlauge aus verschiedenen Gründen etwas näher eingegangen, obwohl dies zur Erklärung des N-Ausfalls selbst nicht unbedingt erforderlich war. Erstens deswegen, um zu zeigen, daß es für die Auswertung der kolorischen Eigenschaft der Bromlauge zu Messungen von entscheidender Bedeutung ist, ob wir das Natriumhypobromit oder das freie Brom als farbbildenden Bestandteil ansehen.

Es ist doch immerhin eine auffällige Tatsache, daß u. W. auf die Möglichkeit einer Verwendung der Bromlauge zu kolorimetrischen Harnstoffbestimmungen bisher noch nicht hingewiesen worden ist, obwohl doch dieser Gedanke bei dem grade in letzter Zeit hervortretenden Bestreben, sich der für klinische Zwecke besonders geeigneten kolorimetrischen Methoden zu bedienen, nicht sehr fern lag. Wir glauben sogar annehmen zu dürfen, daß Versuche in dieser Richtung ausgeführt worden sind, daß aber der unbefriedigende Verlauf derselben der Grund dafür war, den einmal aufgetauchten Gedanken an die Möglichkeit einer kolorimetrischen Harnstoffbestimmung mittels Bromlauge als endgültig abgetan zu verwerfen. Auch wir hatten diesen Mißerfolg zu verzeichnen, weil wir wahrscheinlich mit der gleichen falschen aber nächstliegenden Voraussetzung arbeiteten, daß das Natriumhypobromit das Farbagens ist, eine Annahme, die den Trugschluß in sich birgt, daß Farblosigkeit Nichtvorhandensein von Natriumhypobromit bedeutet. (Daß dem nicht so ist, beweist, daß auf entsprechenden Zusatz von Harnstoff farblos gewordene Bromlauge auf weiteren Harnstoffzusatz noch N entwickelt, sichtbar durch wieder-

einsetzendes Aufperlen von Gasbläschen). Wir hätten unserer mißlungenen Versuche auch nicht Erwähnung getan, wenn wir nicht auf Grund unserer in letzter Zeit revidierten Ansicht über die Natur der Bromlauge doch noch an die Möglichkeit einer kolorimetrischen Harnstoffbestimmung glauben würden.

Der zweite Grund, warum wir auf die Bromlauge ausführlicher zu sprechen kamen, war der, um verständlich zu machen, daß die Bromlauge für den N-Ausfall nicht verantwortlich gemacht werden kann. Außerdem beziehen sich die das chemische Reaktionssystem der Bromlauge betreffenden Ausführungen in gleichem Maße auf den Harnstoff, vielleicht mit der Einschränkung, daß es sich beim Harnstoff als schwache Base mehr um ein elektrolytisch als einfach dissoziiertes System handelt, und somit wären wir bei unserer eigentlichen Beweisführung angelangt: Wenn die Reaktion zwischen Harnstoff und Bromlauge — eingeleitet durch Affinität und unterhalten durch fortlaufende Gleichgewichtsstörungen, ihrerseits wieder verursacht durch Entweichen von CO_2 und N und durch Ausfällen von NaBr — an der N-Ausfallgrenze sistiert, so besagt das mit anderen Worten, daß die Harnstofflösung den Verdünnungsgrad resp. die Konzentration erreicht hat, unterhalb welcher selbst bei stärkster Konzentration der Bromlauge die Reaktion nicht wieder in Gang zu bringen ist, oder, an der N-Ausfallgrenze wird das Entweichen von CO_2 und N und der Niederschlag von NaBr derart minimal, daß diese geringen Mengen nicht mehr imstande sind, den eingetretenen Gleichgewichtszustand zu stören. Erst durch stärker einsetzende Dissoziation bei Erhitzen des Gemisches beginnt die Reaktion von neuem, was aber im Wesen einer Konzentrationssteigerung der von der Reaktion bisher nicht erfaßten Harnstofflösung gleichkommt (wobei Konzentration in diesem Zusammenhange nicht im quantitativen Sinne sondern im Sinne eines reaktiven Effektfaktors gemeint ist).

Näherliegend ist es vielleicht, das Guldberg-Waagesche Massenwirkungsgesetz zur Erklärung heranzuziehen. Die gesteigerte Molekularbewegung durch Wärmezufuhr würde das Wiedereinsetzen der Reaktion auch verständlich machen, wenn sich nicht ein Widerspruch erheben würde, nämlich der, daß längere Zeit auf Harnstoff einwirkende Bromlauge den Stickstoff des Ausfallanteils unberührt läßt. Denn da gesteigerte Molekularbewegung die Reaktion beschleunigt, so müßte auch die Reaktionsdauer als aequivalenter Effektfaktor den N-Ausfall beseitigen, was aber nicht der Fall ist. Außerdem wird durch Einengung einer Harnstofflösung (Verringerung der Distanz zwischen den einzelnen Molekülen) der N-Ausfall ebenfalls nicht beeinflußt.

Wenn unsere Annahme richtig ist, so müßte der Ausfall an Stickstoff eine von der Konzentration des Untersuchungsmaterials unabhängige konstante Größe darstellen. In der

Tat verhält es sich auch so. Nach unseren Untersuchungen (s. Tabelle 1) beträgt der N-Ausfall stets etwa 0,5—1,0 mg. Es ist daher nicht richtig, den N-Ausfall in Prozenten auszudrükken. Man ist zwar übereingekommen, ihn mit 5 % in Anrechnung zu bringen, die Angaben schwanken aber zwischen 2 % und 10 %, und unsere in Uebereinstimmung mit anderen Autoren gemachte Feststellung, daß der Prozentsatz des N-Ausfalls mit zunehmender Konzentration des Harnstoffs sinkt, ist uns eine Bestätigung für die Konstanz des N-Ausfalls und letzten Endes eine Hauptstütze der von uns vertretenen Auffassung von den dem N-Ausfall zugrunde liegenden Ursachen.

Fassen wir unsere letzten Ausführungen zusammen, so kommen wir zu folgenden Schlußfolgerungen: Wir sind in Uebereinstimmung mit Lunge, Treadwell, Margosches und Rose der Auffassung, daß durch Erhitzen der Bromlauge der N-Ausfall praktisch auf 0 reduziert werden kann und begründen dies damit, daß bei Erreichen der N-Ausfallgrenze die von der Reaktion noch nicht erfaßte Harnstofflösung ihre kritische Konzentration erreicht hat, unterhalb welcher sie selbst bei stärkster Konzentration der Bromlauge nicht mehr reaktionsfähig ist, und daß die Reaktion durch Erhitzen erst deswegen wieder einsetzt, weil durch die Wärmezufuhr eine gesteigerte Dissoziation der Harnstofflösung eintritt, die durch Bildung frischer freier Atome im Effekt einer Konzentrationserhöhung gleichkommt. Wir teilen nicht den Standpunkt von Knop, Plehn, Pagel und Huefner, daß ein Teil des Stickstoffs von der Bromlauge absorbiert wird, auch nicht den von Luther, Fauconnier, Rayleigh und Ramsay, Dehn und M. Krogh, daß der N-Ausfall auf Konto von während der Reaktion entstandenen N-Verbindungen zu setzen ist, wie Cyan- und Cyanursäure (Luther), Salpetersäure und Stickstoff-Sauerstoffverbindungen (Fauconnier, Luther, Rayleigh und Ramsay), Stickoxyd und Kohlenoxyd (M. Krogh), vielmehr sind wir der Ansicht, daß der N-Ausfall und dessen Beseitigung durch Erhitzen auf thermochemische und dissoziative Reaktionsverhältnisse zurückzuführen sind.

Die soeben behandelte Frage hat mehr theoretisches als praktisches Interesse, denn die auf N-Ausfall beruhenden Differenzen sind im Hinblick auf den in beträchtlicher Höhe schwankenden R.—N- bezw. H.—N-Spiegel Normaler derart minimal, daß sie für die Beurteilung physiologischer Norm oder pathologischer Abweichung ohne Einfluß sind. Die großen Differenzen können nicht mit dem N-Ausfall erklärt werden, sondern sind in der Anwendung differierender Enteiweißungsmethoden und in der Verwendung der verschiedenartigsten Harnstoffbestimmungsapparate begründet (nahezu 50 sind angegeben). Wir haben 4 Jahre mit dem Kowarskischen Ureometer gearbeitet und Resultate erzielt, die weit über die

Ansprüche hinausgehen, die man an eine klinische Methode stellen kann. Bevor wir unsere Ergebnisse zu Papier bringen, sei uns noch eine rein technische Bemerkung gestattet: Es kommt mitunter vor, daß durch Schaumbildung (durch die Eigenart des Serums bedingt) eine Ablesung des genauen Meniscus-Standes unmöglich ist. Man kann sich dadurch helfen, daß man den Inhalt im Gasentwicklungsraum vom Rezeptor aus mit Aqu. dest. solange auswäscht, bis der Schaum verschwunden oder wenigstens vom Meniscus abgedrängt ist.

Nachfolgend unsere Resultate in Tabellen zusammengefaßt:

Tabelle I

Leer- und Testversuch mit kalter Bromlauge mittels der Kowarskischen Ureometermethode.

Untersuchungsmaterial		Aqu. dest.		Harnstofflösung					
		3 ccm	6 ccm	0,015 %	0,03 %	0,06 %	0,15 %	0,3 %	0,6 %
mg Ur—N/100 ccm		0,0	0,0	14,2	29,3	59,3	149,2	299,4	599,1
N-Ausfall	mg	/ /	/ /	0,8	0,7	0,7	0,8	0,6	0,9
	%	/ /	/ /	5,0	2,0	1,0	0,5	0,2	0,15

Die Testversuche wurden angestellt, um die Präzision des Kowarskischen Ureometers zu prüfen. Die Ergebnisse verzeichnen einen N-Ausfall von 0,6—0,9 mg resp. 0,15—5 %. Der N-Ausfall richtet sich nicht nach der Konzentration der Harnstofflösung, sondern bleibt konstant.

Tabelle II

Testversuche mit heißer Bromlauge nach Kowarski.

Untersuchungsmaterial		Harnstofflösung						
		0,015 %	0,03 %	0,06 %	0,09 %	0,15 %	0,3 %	0,6 %
mg Ur—N/100 ccm		14,8	29,9	59,9	89,8	150,0	299,9	600,1
N—Ausfall	mg	0,2	0,1	0,1	0,2	0,0	0,1	—0,1
	%	1,0	0,3	0,2	0,2	0,0	0,05	—0,02

Die gleichen Versuche nur mit heißer Bromlauge. Der N-Ausfall geht auf —0,1 bis 0,2 % resp. —0,02 bis 1,0 % zurück, wird also praktisch gleich null. Bei der 0,6 % Harnstofflösung wird der N-Ausfall sogar negativ. Solowjew (Bioch. Ztschr., 190, 199, 1927) weist darauf hin, daß bei konzentrierten Harnstofflösungen nicht nur kein N-Ausfall zu verzeichnen ist, sondern daß sogar das N-Volumen über den Testwert hinausgeht. Er vermutet hinter diesem Mehrwert Sauerstoff, der sich während der Reaktion entwickelt haben soll.

Tabelle III

Testversuch mit Harnstoff-Trichloressigsäurelösung nach Kowarski mit kalter und heißer Bromlauge.

Testlösung	Bromlauge kalt	Bromlauge heiß
	mg Ur—N/100 ccm	
$CO(NH_2)_2$ + CCl_3COOH		
I : I	29,4	29,8
0,03 % 5,0 %		
$CO(NH_2)_2$ + CCl_3COOH		
I : I	59,1	59,8
0,06 % 10,0 %		

Diese beiden Versuche sollen zeigen, daß durch die Einwirkung von Trichloressigsäure auf Harnstoff das N-Volumen nicht beeinflußt wird.

Tabelle IV

Ur-N-Bestimmung nach Kowarski mit nur 2 ccm Serumfiltrat, also 1 ccm Serum.

Nr.	ccm Serum	
	1,25	1,0
1.	18,6 mg	18,1 mg
2.	20,0 mg	19,7 mg
3.	24,9 mg	25,2 mg
4.	17,6 mg	17,3 mg
5.	15,2 mg	15,5 mg

Die Bedenken, die man gegen die Verwendung allzu kleiner Serummengen erhebt, sind sehr berechtigt. Die Stimmen, die alle Mikromethoden als ungenau ablehnen, mehren sich von Jahr zu Jahr. Leider ist die oft geringe verfügbare Blutmenge mit den Erfordernissen einer Methode nicht in Einklang zu bringen. Die Versuche dieser Tabelle dienten der Feststellung der Minimalgrenze. Mit 1,0 ccm Serum erhält man noch durchaus zuver-

lässige Resultate. Nach Vorschrift von Kowarski benötigt man 1.25 ccm. Um kein Mißverständnis aufkommen zu lassen: Bei 1.0 ccm resp. 1.25 ccm handelt es sich um die vom Rezeptor aus abgelassene Serummenge im Filtrat.

Tabelle V

NH_3-Bestimmung des Ureasepräparats.

Urease mg	NH_3—N mg
1,0	0,181
2,0	0,359
3,0	0,541
4,0	0,717

Tabelle VI

Testversuche mit genau abgewogenen Urease-Portionen.

(In den Tabellenwerten ist 0,18 mg N pro 1,0 mg Urease bereits abgezogen).

% Harnstofflösung	0,015	0,06	0,15
mg Urease	1,0	2,0	3,0
mg Ur—N/100 ccm	14,6	59,1	148,8

Tabelle V und VI enthalten die Vorversuche zur Ureasemethode. Unsere Urease erwies sich als ammoniakhaltig, und zwar entsprachen 1,0 mg Urease etwa 0,18 mg NH_3-N, sodaß wir in der Folge mit genau abgewogenen Urease-Portionen arbeiten mußten. Uebrigens ist auch hier ein N-Ausfall zu verzeichnen. Allerdings berechtigen diese 3 Versuche nicht, von einem N-Ausfall der Urease als feststehende Tatsache zu sprechen.

Tabelle VII

Bestimmung des H.—N resp. SaH.—N im Serum nach Kowarski und mit der Ureasemethode.

Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Methode nach Kowarski	Urease-Methode
1.	4. 12. 24	Bolkenius	13 Jahre	Scharlachnephritis	52.1 mg	50,3 mg
2.	4. 12. 24	Jackler G.	8 Jahre	Scharlach	32.3 mg	30,5 mg
3.	29. 12. 24	Hupperts	7 Jahre	Scharlach	12.8 mg	11,4 mg
4.	31. 12. 24	Fischer	9 Jahre	Scharlach	15.3 mg	14,0 mg
5.	?. 1. 25	Jackler H.	13 Jahre	Scharlach	25.6 mg	24,1 mg
6.	?. 1. 25	Pahlke	6 Jahre	Scharlach	14.4 mg	13,3 mg

Mit den Resultaten der Urease-Methode wollten wir die der Kowarskischen Methode kontrollieren. Die Kowarskischen Werte sind um etwa 1—2 mg höher. Da die Urease nur den H.—N entwickelt, die Bromlauge aber den Sa—H.—N, so stimmen die Werte im großenganzen überein.

Tabelle VIII

Bestimmung des $\overset{+}{\text{Ur}}$—N nach Kowarski und des R.—N mittels der Kjeldal-Halbmikromethode.

Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Methode nach Kowarski	Kjeldahl-Halbmikrometh.
1.	14. 1. 25	Kaußen	Kind	Scharlach	13,0 mg	22.0 mg
2.	15. 1. 25	Matheus	10 Jahre	Scharlachnephritis	136,0 mg	154,0 mg
3.	4. 3. 25	Beche	Erw.	Blutung aus beiden Nieren Prostatahypertrophie (Hernephritis?).	93,0 mg	111.0 mg
4.	?. 5. 25	Kropius	7 Mon.	Pylorospasmus	17,0 mg	31,0 mg
5.	?. 5. 25	Teuerkauf	4 Mon.	Frühgeburt	26,0 mg	39,0 mg
6.	?. 5. 25	Gobbas	3 Mon.	Pylorospasmus	32,0 mg	50,0 mg
7.	10. 5. 25	Kramm	9 Mon.	Rachitis	22,0 mg	43,0 mg
8.	10. 5. 25	Petri	2½ Jahre	Tbc. pulmon.	15,0 mg	31,0 mg
9.	12. 5. 25	Bonn	1 Mon.	Frühgeburt	34,0 mg	45,0 mg

Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Methode nach Kowarski	Kjeldahl-Halbmikrometh.
10.	12. 5. 25	Stammler	2 Mon.	Frühgeburt	34,0 mg	47,0 mg
11.	25. 5. 25	Orthmann	Kind	Nephrose	13,0 mg	28,0 mg
12.	14. 7. 25	Lallement	3 Jahre	Scharlachnephritis	72,0 mg	92,0 mg
13.	29. 9. 25	Hackspiel	3 Mon.	Bronchopneumonie (Frühgeburt)	18,0 mg	39,0 mg
14.	27. 9. 25	Meyer	4 Jahre	Verbrennung	42,0 mg	87,0 mg
15.	24. 9. 25	Eschbach	6 Jahre	Nephrose	24,0 mg	49,0 mg
16.	25. 9. 25	Martin	4 Jahre	Pericarditis (Stauung)	63,0 mg	117,0 mg
17.	1. 10. 25	Peters	4 Mon.	Lues. Bronchopneumonie	21 mg	38 mg
18.	2. 10. 25	Aulock	Kind	Diagnose? cerebraler Prozeß	8 mg	21 mg
19.	7. 10. 25	Gossen	8 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	17 mg	31 mg
20.	8. 10. 25	Gossen	8 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	14 mg	26 mg
21.	17. 12. 25	Dr. Bolwin	/ /	abgekl. Scharlachnephritis	16 mg	31 mg
22.	19. 12. 25	Dr. Bolwin	/ /	abgekl. Scharlachnephritis	19 mg	40 mg

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß der Anteil des SaH.—N am R.—N ungefähr zwischen 45—65 % schwankt in Uebereinstimmung mit den Angaben von Bang, Feigl u. a. Die meisten Werte liegen zwischen 50—55 %. Aus diesem Normbereich fällt Fall 2 mit 88 % (Scharlachnephritis), Fall 3 mit 84 % (Prostatahypertrophie), Fall 9 mit 75 % (Frühgeburt), Fall 10 mit 70 % (Frühgeburt), Fall 12 mit 78 % (Scharlachnephritis) und Fall 18 mit 38 % (cerebraler Prozeß, Diagnose unklar). Daß bei renalen Azotaemien der Harnstoffanteil steigt, ist bekannt. Fall 3 stellt eine mechanisch bedingte Retention dar. Interessant ist der hohe Harnstoffanteil der beiden Frühgeburten und der niedrige von Fall 18. Jedoch würden wir es für etwas voreilig halten, aus diesen vereinzelten Fällen pathognomonische Schlüsse zu ziehen.

Tabelle IX

Bestimmung des $\overset{+}{\text{Ur}}$—N im Serum (und im Liquor, 6 Bestimmungen) von Gesunden und Kranken.

Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Methode nach Kowarski
1.	4. 12. 24	Anna Weyrich	9 Jahre	Scharlachnephritis	39 mg
2.	4. 12. 24	A. Bolkenius	13 Jahre	Scharlachnephritis	52 mg
3.	4. 12. 24	G. Jackler	8 Jahre	Scharlach	32 mg
4.	4. 12. 24	Lietz	Kind	Scharlach	17 mg
5.	13. 12. 24	Bolkenius	13 Jahre	Scharlachnephritis	35 mg
6.	13. 12. 24	Weyrich	9 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	22 mg
7.	20. 12. 24	Hilde Ronich	9 Jahre	Scharlach	15 mg
8.	24. 12. 24	Sofie Tibo	12 Jahre	Scharlach	14 mg
9.	24. 12. 24	Bolkenius	13 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	24 mg
17.	/ /	R. Böck	4 Jahre	Scharlach	20 mg
18.	/ /	Fr. Harms	22 Jahre	Scharlach	14 mg
19.	6. 1. 25	Bolkenius	13 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	22 mg
20.	8. 1. 25	Dr. Sindler	/ /	Gesund	22 mg
21.	8. 1. 25	S. Ball	29 Jahre	Gesund	16 mg
22.	8. 1. 25	Dr. Koch	/ /	Gesund	17 mg
23.	8. 1. 25	Dr. Mosheim	/ /	Gesund	23 mg
24.	13. 1. 25	Schmitz	Kind	Scharlach	15 mg
25.	13. 1. 25	Harnischmacher	Kind	Scharlach	19 mg
26.	13. 1. 25	Soodt	Kind	Scharlach	21 mg
27.	13. 1. 25	Keihe	Kind	Scharlach	15 mg
28	14. 1. 25	Putz (Med. Klinik)	14 Jahre	abgekl. Nephritis	18 mg
29.	14. 1. 25	Dietrich (Med. Klinik)	14 Jahre	abgekl. Nephritis	16 mg

Die Fälle Nr. 10 bis 16 sind im Nachtrag zu dieser Tabelle auf S. 48 angeführt.

Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Methode nach Kowarski
30.	14. 1. 25	Bergs (Med. Klinik)	54 Jahre	Nephrosklerose	47 mg
31.	15. 1. 25	Berghoff	Erw.	Uraemie Scharlachnephritis	294 mg
32.	16. 11. 25	N. N. (Med. Klinik)	Erw.	z. Beob.	24 mg
33.	14. 1. 25	Kaußen	Kind	Scharlach	13 mg
34.	15. 1. 25	Matheus	Kind	Uraemie Scharlachnephritis	136 mg
35	19. 1. 25	M. Christ	Kind	Scharlach, Endocarditis	10 mg
36.	22. 1. 25	Dr. Mosheim	/ /	Gesund	17 mg
37.	24. 1. 25	Kraiseler (Med. Klinik)	Erw.	haemerrh. Glomerulo-Nephritis	60 mg
38.	26. 2. 25	Tibo	12 Jahre	Rekonvalescenz nach Scharlach	19 mg
39	4. 3. 25	Beche (Urol. Klinik)	Erw.	Blutung aus beiden Nieren Prostata-hypertraphie (Herdnephritis?)	93 mg
40.	17. 3. 25	Keunhof	10 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	24 mg
41.	/ 5. 25	Karl Kropius	7 Mon.	Pylorospasmus	17 mg
42.	/ 5. 25	Ernst Teuerkauf	4 Mon.	Frühgeburt	26 mg
43.	/ 5. 25	Kurt Gobbas	3 Mon.	Pylorospasmus	32 mg
44	10. 5. 25	Kramm	9 Mon.	Rachitis	22 mg
45.	10. 5. 25	Elis. Petri	2½ Jahre	Tbc. pulmon.	15 mg
46.	12. 5. 25	J. Reif	14 Mon.	Rachitis	19 mg
47.	12. 5. 25	Herm. Bonn	1 Mon.	Frühgeburt	34 mg
48.	12. 5. 25	Elis. Stammler	2 Mon.	Frühgeburt	34 mg
49.	18. 5. 25	A. Benedetti	11 Mon.	Tbc. pulmon.	22 mg
50.	25. 5. 25	Orthmann	Kind	Nephrose	13 mg
51.	30. 5. 25	Maria Schmitz	14 Jahre	Tbc. pulmon.	16 mg
52.	5. 6. 25	N. N.	3 Jahre	beginnende Nephritis	16 mg
53.	14. 7. 25	Heinz Lallement	3 Jahre	Scharlachnephritis	72 mg
54.	10. 7. 25	Bertram	Säugling	Lues	19 mg

Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Methode nach Kowarski
55.	10. 7. 25	H. Schulze	Säugling	Rachitis	23 mg
56.	15. 7. 25	Marianne Kraft	Kind	abkl. Scharlachnephritis	15 mg
57.	10. 7. 25	Graaf	Säugling	Rachitis	26 mg
58.	16. 7. 25	Hörster	4 Jahre	Meningitis pur.	11 mg im Liquor
59.	26. 7. 25	Hörster	4 Jahre	Meningitis pur.	12 mg im Liquor
60.	26. 7. 25	Hörster	4 Jahre	Meningitis pur.	12 mg im Liquor nicht enteiweißt
61.	4. 8. 25	Hörster	4 Jahre	Meningitis pur.	12 mg im Liquor
62.	23. 7. 25	Tunert	7 Mon.	Miliartbc.	19 mg im Liquor
63.	3. 8. 25	N. N.	Kind	Meningitis tuberculosa	39 mg im Liquor
64.	29. 9. 25	Käthe Hackspiel	3 Mon.	Frühgeburt Bronchopneumonie	18 mg im Blut
65.	27. 9. 25	Meyer	4 Jahre	Verbrennung	42 mg
66.	24. 9. 25	Eschbach	5¾ Jahre	Nephrose (?)	24 mg
67.	25. 9. 25	J. Martin	4 Jahre	Pericarditis, Stauung	63 mg
68.	26. 9. 25	Eschbach	5¾ Jahre	Nephrose (?)	60 mg
69.	1. 10. 25	R. Peters	4 Mon.	Lues, Bronchopneumonie	21 mg
70.	2. 10. 25	Aulock	Kind	Diagnose unklar cerebraler Prozeß	8 mg
71.	7. 10. 25	Gossen	8 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	17 mg
72.	8. 10. 25	Gossen	8 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	14 mg
73.	17. 12. 25	Dr. Bolwin	/ /	abgekl. Scharlachnephritis	16 mg
74.	19. 12. 25	Dr. Bolwin	/ /	abgekl. Scharlachnephritis	19 mg
75.	24. 3. 25	Dr. Nohlen	/ /	Gesund	19 mg
76.	25. 3. 25	Löwenbach	Erw.	Gesund	20 mg
77.	23. 5. 25	Kartergener	Erw.	Gesund	26 mg
78.	?. 4. 25	Dr. Sindler	/ /	Gesund	29 mg
79.	?. 4. 25	S. Ball	29 Jahre	Gesund	23 mg

Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Methode nach Kowarski
80.	15. 7. 26	Junge	Kind	Nephritis	70 mg
81.	17. 8. 26	Junge	Kind	Nephritis	52 mg
82.	22. 7. 26	Zimmat	5 Jahre	Scharlach	10 mg
83.	28. 12. 26	Gretel Jakobs	Kind	Scharlach	20 mg
84.	14. 1. 27	Gertz	Kind	Scharlach	20 mg
85.	23. 3. 27	Trott	Kind	Bronchopneumonie	26 mg
			Nachtrag		
10.	29. 12. 24	A. Hupperts	7 Jahre	Scharlach	12 mg
11.	29. 12. 24	W. Theißen	18 Jahre	Scharlach	20 mg
12.	31. 12. 24	Otto Fischer	9 Jahre	Scharlach	15 mg
13.	?. 1. 25	A. Keunhof	10 Jahre	Scharlachnephritis	25 mg
14.	?. 1. 25	H. Jackler	13 Jahre	Scharlach	25 mg
15.	?. 1. 25	E. Kalbitzer	Erw.	Scharlach	17 mg
16.	?. 1. 25	H. Pahlke	6 Jahre	Scharlach	13 mg

Den Minimalwert hat Fall 35 und 82 mit 10 mg — abgesehen von dem bereits besprochenen Fall 70 mit 8 mg —, den Maximalwert hat Fall 78 mit 29 mg. Der Durchschnittswert dieses Normbereiches ist 19,0 mg. Wir haben diejenigen Werte, die in keinem kontinuierlichen Zusammenhang mehr zum Normbereich stehen in denselben nicht mehr einbezogen. Im Zweifel kann man sein in den Fällen 3, 43, 47 und 48. Fall 3 hatte zur Zeit der Blutentnahme Fieber, sodaß vielleicht in diesem Umstande die Ursache für den hohen Wert zu suchen ist. Für die beiden Frühgeburten und den Fall des Pylorospasmus haben wir keine Deutung. Retentionen liegen vor im Fall 1, 2, 5, 30, 31, 34, 37, 39, 53, 68, 80 und 81 (renale Ursachen), ferner in den Fällen 65 (Verbrennung) und 67 (Pericarditis mit Stauung). Beachtenswert sind die beiden hohen Liquorwerte: Fall 62 mit 19 mg bei Miliartuberkulose und Fall 63 bei Meningitis tuberculosa mit 39 mg.

Im allgemeinen wird für H.—N 10—25 mg angegeben. Unser Maximalwert ist um 4,0 mg höher. Unsere Ergebnisse stimmen daher mehr mit denen von Folin-Wu und Gettler u. Baker überein, die für R.—N 28—42 mg bezw. 30—45 mg angegeben haben, als mit denen von Bang, 19—30 für R.—N, 10—22 für H.—N.

Tabelle X

Bestimmung des Ur—N aus den Filtraten verschiedener Eiweißfällungsarten.

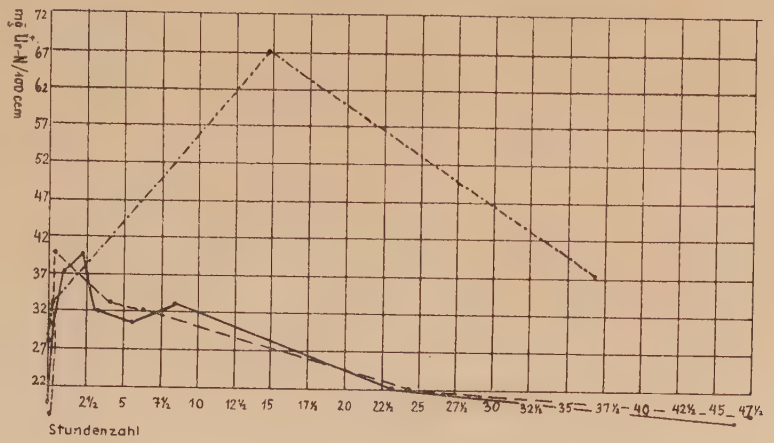
Nr.	Datum	Name	Alter	Krankheit	Uranylacetat	Fällungsmittel Trichloressigsäure 20%	10%	5%	2,5%
1.	29. 9. 25	Hackspiel	3 Mon.	Bronchopneumonie Frühgeburt	31 mg	23 mg	22 mg	18 mg	18 mg
2.	27. 9. 25	Meyer	4 Jahre	Verbrennung	71 mg	45 mg	45 mg	42 mg	41 mg
3.	24. 9. 25	Eschbach	6 Jahre	Nephrose (?)	38 mg	28 mg	27 mg	24 mg	23 mg
4.	1. 10. 25	Peters	4 Mon.	Lues. Bronchopneumonie	30 mg	25 mg	23 mg	21 mg	20 mg
5.	7. 10. 25	Gossen	8 Jahre	abgekl. Scharlachnephritis	28 mg	21 mg	21 mg	17 mg	17 mg
6.	17. 12. 25	Dr. Bolwin	/ /	abgekl. Scharlachnephritis	29 mg	20 mg	19 mg	16 mg	16 mg

Man ersieht aus dieser Tabelle, welche enorme Differenzen bei Anwendung verschiedener Eiweißfällungsmittel auftreten können, ja, daß sogar ein und dasselbe Fällungsmittel, nur in anderer Konzentration, das Resultat auch für die klinische Wertung bereits merklich beeinflußt (Vgl. Sjollema u. C. W. G. Hetterschy, Bioch. Ztschr. 84, 371, 1917). Wir glauben, daß die höheren Werte bei Enteiweißung mit 10% und 20% Trichloressigsäure und besonders mit Uranylacetat (1,6%) auf in Lösung gehende Acidalbumine zurückzuführen sind, daß die Eiweißfällung zum Teil reversibel wird. Bei diesen Serumfiltraten tritt oftmals auf Zusatz einiger Tropfen einer 20% Sulfosalicylsäure eine geringe Opalescenz auf, die wir an Serumfiltraten 5 prozentiger Trichloressigsäure nie beobachtet haben. Wir würden daher die Enteiweißung mit 5% Trichloressigsäure empfehlen. Wir haben für unsere Bestimmungen entsprechend der Vorschrift von Kowarski die Enteiweißung mit 10% Trichloressigsäure vorgenommen, da uns diese erwähnten Zweifel erst vor den letzten Bestimmungen kamen. In den Tabellen haben wir jedoch unsere Werte insofern berichtigt, als wir durchgehend 3 mg in Abzug gebracht haben.

A Anhang

I. Schwankungen des Harnstoffspiegels im Blute nach peroraler Applikation von Harnstoff.

Kurve I



Fall 1 (————)

24. 3. 25, 8,45 Uhr . 19 mg Ur—N
24. 3. 25, 9,15 Uhr . 30 mg Ur—N
24. 3. 25, 9,45 Uhr . 37 mg Ur—N
24. 3. 25, 11,00 Uhr . 39 mg Ur—N
24. 3. 25, 12,00 Uhr . 32 mg Ur—N
24. 3. 25, 14,15 Uhr . 31 mg Ur—N
24. 3. 25, 17,00 Uhr . 33 mg Ur—N
25. 3. 25, 10,30 Uhr . 22 mg Ur—N
26. 3. 25, 10,00 Uhr . 19 mg Ur—N

24. 3. 25, um 9 Uhr, 20 g Urea p. os

Fall 2 (— — —)

25. 3. 25, 12,15 Uhr . 20 mg Ur—N
25. 3. 25, 12,30 Uhr . 22 mg Ur—N
25. 3. 25, 12,45 Uhr . 39 mg Ur—N
25. 3. 25, 16,15 Uhr . 33 mg Ur—N
25. 3. 25, 18,30 Uhr . 32 mg Ur—N
26. 3. 25, 12,45 Uhr . 22 mg Ur—N
27. 3. 25, 12,00 Uhr . 20 mg Ur—N

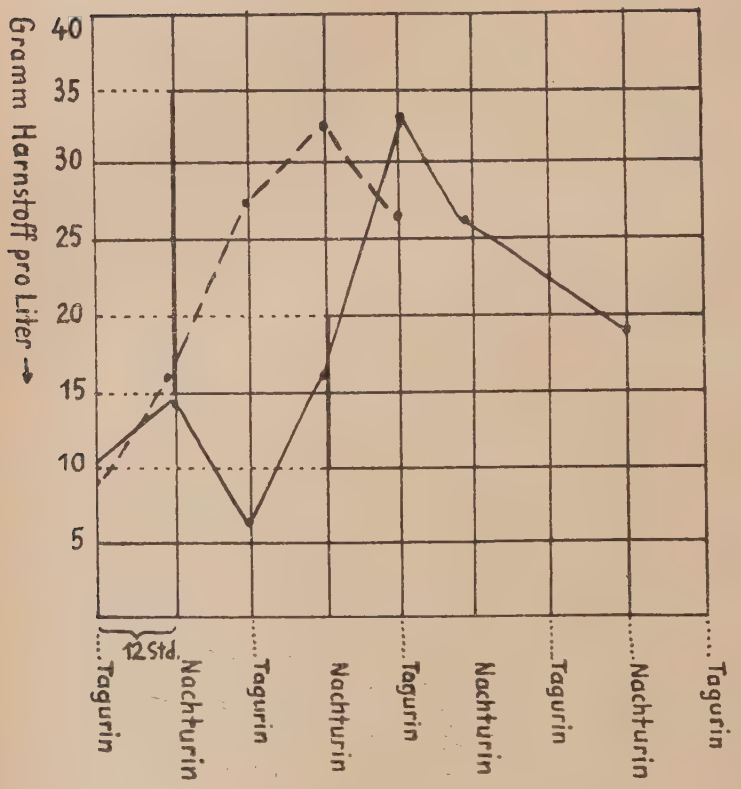
25. 3. 25, um 12,20 Uhr, 20 g Urea per os.

Fall 3 (— - —)

23. 5. 25, 9,15 Uhr . 26 mg Ur—N
23. 5. 25, 9,40 Uhr . 33 mg Ur—N
24. 5. 25, 12,30 Uhr . 67 mg Ur—N
25. 5. 25, 10,30 Uhr . 37 mg Ur—N

23. 5. 25, um 9,30 Uhr, 40 g Urea per os

II. Harnstoffausscheidung nach Applikation von Harnstoff. Kurve II



Fall 1 (————)

1)	Am 25. 5. 25, von 8—20 Uhr	10,721 g Ur.
2)	Vom 25. auf 26., von 20—8 Uhr	14,543 g Ur.
3)	Am 26. 5. 25, von 8—20 Uhr	6,920 g Ur.
4)	Vom 26. auf 27., von 20—8 Uhr	15,778 g Ur.
	Am 27. 5. 25, um 8½ Uhr, 10 g Urea per os.	
5)	Am 22. 5. 25, von 8—20 Uhr	32.67 g Ur.
6)	Vom 27. auf 28., von 20—8 Uhr	25,74 g Ur.
7)	Am 28. 5. 25, von 8—20 Uhr	23,36 g Ur.
8)	Vom 28. auf 29., von 20—8 Uhr	19,00 g Ur.

Fall 2 (— — —)

1)	Am 3. 6. 25, von 8—20 Uhr	9,552 g Ur.
2)	Vom 3. auf 4., von 20—8 Uhr	16,119 g Ur.
	Am 4. 5. 25, um 8½ Uhr, 20 g Urea per os.	
3)	Am 4. 5. 25, von 8—20 Uhr	29.253 g Ur.
4)	Vom 4. auf 5., von 20—8 Uhr	32,238 g Ur.
5)	Am 5. 5. 25, von 8—20 Uhr	26,656 g Ur.

Erklärung zu Kurve I: Alle 3 Fälle zeigen übereinstimmend, daß bereits nach 10—15 Minuten der Harnstoff ins Blut übergegangen ist. Ferner zeigt Fall 1 und 2, daß die maximale Resorption in etwa 30 -90 Minuten erreicht ist und daß von diesem Zeitpunkt an der Harnstoffspiegel ganz allmählich sinkt. Nach etwa 48 Stunden wird das Ausgangsniveau wiedererreicht. In beiden Fällen betrug die maximale Resorption etwa 20 mg H.—N resp. 44 mg Harnstoff. Nehmen wir die Blutmenge des Erwachsenen zu rund 8 Liter an, so wäre vom Blute insgesamt 3,52 g Harnstoff resorbiert worden, 17,6 % des eingenommenen Harnstoffs. Um eine etwaige Gesetzmäßigkeit zwischen Harnstoffaufnahme und resorptive Kapazität des Blutes festzustellen, verabreichten wir im Falle 3 die doppelte Menge Harnstoff (40 g). Da wir die Versuchspersonen nur zu vier Blutentnahmen bewegen konnten, so war nicht zu ermitteln, in welcher Zeit die maximale Resorption ungefähr erreicht war, und ob der Wert 67 mg H.—N wirklich der Maximalwert ist. Aus nachfolgender Ueberlegung ist aber wohl anzunehmen, daß ein um 67 mg liegender Wert der maximale ist: Nehmen wir an, 67 mg sei der Maximalwert, so würde die maximale Resorption 41 mg H.—N betragen und, auf 8 Liter berechnet, 3,28 g H. N rsp. 7,029 g Harnstoff, also 17,6 % des eingenommenen Harnstoffs, genau wie in den beiden ersten Fällen. (Daß der prozentuale Anteil des resorbierten Harnstoffs in allen 3 Fällen ganz genau übereinstimmt, nämlich 17,6 %, ist wohl mehr ein zufälliges Ergebnis). Jedenfalls berechtigt aber die zweifellos vorhandene Uebereinstimmung, 67 mg als Maximalwert anzunehmen. Demnach wäre die maximale Resorption erst nach 3 Stunden erreicht worden, also in der doppelten Zeit wie in den beiden ersten Fällen. Wir sehen auch, daß das Abfinken zum Ausgangswert nach 48 Stunden noch nicht beendet war.

Aus diesen 3 Versuchen gelangen wir zu folgenden Schlüssen: Die Resorptionskapazität des Blutes für Harnstoff ist nicht begrenzt, sondern richtet sich nach der Menge des eingenommenen Harnstoffs. Sie beträgt ca. 17,6 %. Auf den zeitlichen Verlauf der Resorption (Geschwindigkeit) hat die einverleibte Harnstoffmenge keinen Einfluß. Eine Erhöhung des Harnstoffspiegels tritt bereits 10 –15 Minuten nach Einnahme von Harnstoff ein. Der Maximalstand des Harnstoffspiegels wird relativ rasch erreicht, bei 20 g Urea in ungefähr 30—90 Minuten. Das Absinken des Harnstoffspiegels geht jedoch ganz allmählich vor sich. Der Ausgangswert wird bei 20 g Urea in etwa 48 Stunden erreicht. Bei 40 g wird entsprechend der doppelten Menge Harnstoff ungefähr die doppelte Zeit zur Erreichung des Maximalstandes und zum Absinken zum Ausgangswert benötigt.

Erklärung zu Kurve II: Die Länge der durch die Kurven vertikal gezogenen Striche bezeichnet die Menge des verab-

reichten Harnstoffs, der Schnittpunkt den Zeitpunkt der Verabreichung. Aus Kurve (——) ist ersichtlich, daß der eingenommene Harnstoff (10 g) nicht nur innerhalb 12 Stunden wieder ausgeschieden worden ist, sondern daß darüber hinaus eine Ausscheidung des retinierten Harnstoffs eingesetzt hatte. (Es handelte sich in diesem Falle um eine Nephrose mit starker Oedembildung bei einem Kinde). Etwa 8 Tage darauf (s. Kurve (– – –) bekam das Kind unter sonst gleichen Versuchsbedingungen 20 g Urea. Die Oedeme waren inzwischen etwas zurückgegangen. Auch hier die gleiche Wirkung, nur verteilte sich entsprechend der größeren Harnstoffgabe die Ausscheidung des Harnstoffs auf einen größeren Zeitraum. Die Ausschwemmung von retiniertem Harnstoff konnte erst bei der zweiten 12 Stunden Urinmenge festgestellt werden. Innerhalb 36 Stunden (s. Zahlen unter der Kurve) wurden 88 g ausgeschieden. Setzen wir die 12 stündige Harnstoffausscheidung — ohne vorausgegangene Harnstoffeinnahme — mit 15 g an, was in diesem Falle sicherlich nicht zu niedrig ist, so wäre 23 g (88 – (45 + 20) retinierter Harnstoff ausgeschieden worden.

Diese Kurve ist insofern instruktiv, als sie die diuretische Wirkung der Urea eindeutig zeigt. Bei Erwachsenen soll sie allerdings nicht diuretisch wirken, was auch wir bestätigen können. So war z. B. die Diurese unserer 3 Versuchspersonen der Kurve I nicht vermehrt.

Zusammenfassung.

Verfasser dieser Arbeit weist einleitend auf die Schwierigkeiten des Reststickstoffproblems hin, die er mehr noch als in der Methodentechnik in der Kompliziertheit des Problems selbst begründet sieht. Im nachfolgenden Abschnitt wird auf die verschiedenartige Bedeutung einer R.—N-Bestimmung für Kliniker und Forscher eingegangen. Nach einem kurzen historischen Rückblick auf die Anfänge der Reststickstoff- bezw. Harnstoffstickstoff-Forschung folgt eine Würdigung der Größe der bereits geleisteten Arbeit und ein Hinweis auf die einer fruchtbringenden Kritik zufallenden Aufgaben. Zum Thema überleitend wird auf die Diskrepanz zwischen eindeutig erscheinender Definition des Reststickstoffs und den dieser Definition in Wirklichkeit zugrunde liegenden Kenntnissen hingewiesen. Es wird weiter ausgeführt, daß bereits mit der Fraktionierung des R.—N die ersten Schwierigkeiten einsetzen, ferner, durch welche Faktoren die exakte Isolierung einer R.—N Fraktion erschwert oder fast unmöglich gemacht wird. An Hand einer die einzelnen R.—N Bestandteile enthaltenden Tabelle nach Art, wie sie gemeinhin aufgestellt wird, wird veranschaulicht, daß solche Tabellen zur Vermeidung von Stoffwechselvorgänge betreffenden Fehlschlüssen in jedem Falle

auf ihre substantielle Unterlage geprüft werden müssen, und daß das Operieren mit Tabellenzahlen zu auf den Stoffwechselchemismus konkludierenden Zwecken die Voraussetzung bedingt, daß Fraktionen betreffende Werte aus ein und demselben Blut gewonnen worden sind. Kapitel V handelt von den verschiedenen Formen der Azotaemie, und es werden die Genese berücksichtigende Bezeichnungen in Vorschlag gebracht. Des weiteren wird dargelegt, welche Folgen aus der Ignorierung von Differenzen erwachsen können. Um die Wichtigkeit einer richtigen Einschätzung von Wertunterschieden zu unterstreichen, wird in diesem Zusammenhang auch der Doppelstickstoff-Bestimmung nach Hahn Erwähnung getan. In längeren Ausführungen wird auf die Frage der Enteiweißung als die wichtigste des Stickstoffproblems eingegangen. Nach Abhandlung der Harnstoffbestimmungsmethoden in Kapitel IX und X, in welchen vor allem die Bromlaugeverfahren, und da besonders die Kowarskische Ureometermethode, in den Vordergrund der Besprechung gestellt werden, wird in den beiden letzten Kapiteln der N-Ausfall erörtert und der Versuch zu einer Erklärung für diese bisher unzureichend begründete Tatsache unternommen. Zum Schlusse folgen die Ergebnisse in 10 Tabellen und 2 Kurven zusammengefaßt, die in der Hauptsache als Beweismaterial für die Zuverlässigkeit der Kowarskischen Ureometermethode dienen sollen.

Wir möchten hier nicht unerwähnt lassen, daß wir uns nicht im unklaren darüber sind, daß in Hinblick auf noch offenstehende Fragen eine zweckmäßigere Versuchsanordnung hätte vorgenommen werden können. Es muß aber berücksichtigt werden, daß unser Thema ursprünglich nur „Die Kowarskische Ureometermethode" lautete, und daß sich eine Reihe neuer Fragestellungen erst nach Sichtung des gewonnenen Resultatmaterials ergaben. Soweit solche schon während unserer Untersuchungen auftraten, haben wir ihnen unter Erweiterung unseres Themas in der vorliegenden Fassung nach Möglichkeit Rechnung getragen.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geh.-Rat Prof. Dr. Schloßmann für die Ueberlassung der Arbeit, Herrn Prof. Dr. Eckstein für das derselben stets entgegengebrachte Interesse und Herrn Dr. Sindler für die Einführung in das chemisch-physiologische Arbeitsgebiet meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Auch allen Kollegen und Patienten, die sich für meine Versuchszwecke in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt haben, sei an dieser Stelle in Dankbarkeit gedacht.

Literaturverzeichnis.

Abderhalden: Hdbch. d. biol. Arbeitsmeth.. I 3, S. 359;
I 3, S. 409;
IV 3, S. 735.
Ztschr. f. physiol. Chem. 57, 88.
Acel D.: Bioch. Ztschr., 121, 121, 1921.
Albert B.: Bioch. Ztschr., 92, 396, 1918;
93, 82, 1918.
Aronsohn: Cont. rend de la soc. de biol., 71, 215, 1911.
Aszodi: Bioch. Ztschr., 147, 343, 1924.
Autenrieth W. u. Taege H.: Münch. med. Wschr.. Jg. 69/1922, Nr. 31, S. 1141.
Bang Ivar: „Mikromethoden", Wiesbaden 1920.
Bioch. Ztschr., 49, 19, 1913.
72, 95, 1915.
72, 104, 1915.
Bang Ivar u. Larsson K. O.: Bioch. Ztschr., 51. 193. 1913.
Barcroft: Journ of Physiol., Bd. 29, 1902.
Barrenscheen H. K.: Bioch. Ztschr., 140, 426, 1923.
Barrenscheen H. K. u. Weltmann O.: Bioch. Ztschr., 131, 591, 1922.
Bass R.: Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 76.
Browinski: Ztschr. f. phys. Chem.. Bd. 54.
Bd. 58.
Brugsch: Med. Klinik, Nr. 12/1906.
Brugsch-Schittenhelm: Lehrb. klin. Untersuchungsmethoden, Urban & Schwarzenberg 1908.
Cascao I. H. u. de Anciaes: Bioch. Ztschr.. 144. 179. 1923.
Cohen I. B.: Bioch. Ztschr. 139, 516, 1923.
Czernecki: Malys Jahrbuch, Bd. 39.
Bd. 40.
Deist Hellmuth: Klin. Wschr. Jg. 2/1923, Nr. 20, S. 930.
Deutschberger Otto: Bioch. Ztschr., 198, 268, 1928.
Feigl Joh.: Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 83, 168, 1918.
83. 190. 1918.
83, 257, 1918.
83. 271. 1918.
83, 299, 1918.
83, 317, 1918.
83. 335, 1918.
Bioch. Ztschr.: 72, 119, 1915.
76. 297. 1916.
79. 162. 1917

79, 207, 1917.
81, 14, 1917.
84, 267, 1917.
94, 84, 1919.
101, 62, 1919.
Foit R.: Bioch. Ztschr., 169, 161, 1926.
Folin: Recent. bioch. Investig., Melton Lecture 1917.
Journ. of biol. chem. 51, 419, 1922;
17, 475, 1914.
Folin u. Denis: Journ. of. biol. chem. Bd. 11.
Bd. 12.
Bd. 38.
Fonseca Fernando: Bioch. Ztschr., 144, 175, 1923.
Gad-Andresen K. L.: Bioch. Ztschr., 99, 1, 1919.
116, 266, 1921.
Gettler u. Baker: Journ. of biol. chem. Bd. 25.
Gorschkoff-Grigorieff-Koutourska: Cont. rend. de la soc. de biol., Bd. 76.
Gottlieb Erik: Bioch. Ztschr., 194, 151, 1928.
194, 163, 1928.
Greenwald u. Mac Guire: Journ. of biol. chem., 34, 103, 1918.
Gullick: Journ. of biol. chem., 18, 547.
Haas G.: Dtsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 119.
Bd. 121.
Hahn A.: Deutsche med. Wschr., 1915/I, Nr. 5, S. 134.
Bioch. Ztschr., 121, 261, 1921.
Henriques u. Gottlieb: Ztschr. f. physiol. Chem., 138, 254, 1924.
Heyninx: Bioch. Ztschr., 51, 355, 1913.
Himmerich F.: Bioch. Ztschr., 160, 105, 1925.
191, 74, 1927.
Hoefer P. A. u. Mannheim Julie: Bioch. Ztschr., 131, 145, 1922.
Iwatsuru Rynzo: Bioch. Ztschr., 195, 442, 1928.
Jacoby M.: Bioch. Ztschr., 43, 216, 1912.
Jolles: Bioch. Ztschr., 57, 415.
Kleinmann H.: Bioch. Ztschr., 179, 276, 1926.
179, 287, 1926.
Knop: Chem. Zentralbl., 1860, S. 243.
Kowarski: Med. Klin., 1921/II S. 911.
Krogh: Bioch. Ztschr., 62, 268, 1914.
66, 512, 1914.
Kultjugin A. u. Gubareff E.: Bioch. Ztschr., 164, 437, 1925.
165, 118, 1925.
Kultjugin A. u. Iwanwsky N.: Bioch. Ztschr., 165, 118, 1925.

Laubender: Bioch. Ztschr., 186, 158, 1927.
Lax Heinrich: Klin. Wschr. Jg. 2/1923 Nr. 3 S. 119.
Löb W. u. Prorok A.: Bioch. Ztschr. 65, 273, 1914.
Mandel u. Steudel: „Minimetrische Methoden der Blutuntersuchung", Ver. wiss. Verleger 1921.
Meyer-Estorf: Klin. Wschr., Nr. 18, 1922.
Michaelis-Rona: Bioch. Ztschr., 8, 329, 1908.
8, 356, 1908.
Minich I.: Wien. klin. Wschr., Nr. 34.
Bioch. Ztschr., 142, 266, 1923.
Mörner-Sjögvist-Folin: Ztschr. f. phys. Chem., 32, 504.
37, 548.
Myers V. C. u. Fine M. S.: The Postgraduate, 30, 39, 1925.
Neubauer-Huppertz: „Analyse des Harns", 11. Aufl. 1913 S. 553.
Parnas: Bioch. Ztschr., 127, 442, 1926.
152, 1, 1924.
155, 247, 1925.
159, 298, 1925.
169, 255, 1926.
173, 224, 1926.
181, 80, 1927.
Partos: Bioch. Ztschr., 103, 292, 1920.
Petschacher L.: Bioch. Ztschr. 131, 122, 1922.
142, 377, 1923.
Pflüger-Bleibtreu: Arch. f. d. ges. Physiol., 44, 78.
Pincussohn L.: Bioch. Ztschr., 99, 274.
Pribram H. u. Klein O.: Bioch. Ztschr., 141, 488, 1923.
Revoltella: Bioch. Ztschr., 134, 336, 1922.
144, 229, 1923.
Richter-Quittner: Bioch. Ztschr., 95, 179, 1919.
96, 103, 1919.
124, 106, 1921.
158, 179, 1925.
Richter-Quittner u. Hoenlinger: Wien. klin. Wschr. 1921 Nr. 3.
Rona P.: Bioch. Ztschr., 27, 348, 1910.
Scheel v.: Klin. Mitteil. v. Bispebjerg Hospital, 1916 S. 304.
Scheunert A. u. Pelchrzim H. v.: Bioch. Ztschr., 139, 17, 1923.
Schoendorf: Pflügers Archiv, 63, 192, 1926.
Sjollema B. u. Hetterschy C. W. G.: Bioch. Ztschr., 84, 371, 1917.
Solowjew L.: Bioch. Ztschr., 190, 199, 1927.
Volhard: „Die doppelseitigen haematogenen Nierenerkrankungen," Verl. J. Springer 1918.

Wagner: Ztschr. f. analyt. Chem., 13, 383.
15, 250.
Weltmann u. Tenschert: Wien. med. Wschr., 1922 Nr. 18
Widal: Semaine médicale, 73, 114, 1912.
Wilmans Robert: Monatsschr. f. Kinderheilk., 21, 31, 1921.
Wilson D. W. u. Plass E. D.: Journ. of biol. chem., 29, 413, 1917.
Zoltan u. Aszodi: Bioch. Ztschr., 128, 391, 1912.
135, 546, 1923.

Lebenslauf.

Bin am 3. August 1896 zu Kolomea (Bukowina) geboren. In Frankfurt a. M. erhielt ich meine Schulbildung. Mit dem Zeugnis der Primareife der Klinger-Oberrealschule rückte ich im März 1915 zum österreichischen Heeresdienst ein. Nach 34 monatlichem Felddienst an der italienischen und rumänischen Front wurde ich im Oktober 1918 mit 2 Tapferkeitsmedaillen aus dem Heere entlassen. Da ich als Ausländer Ansprüche auf Vergünstigungen für deutsche Kriegsteilnehmer nicht geltend machen konnte, erfolgte meine Immatrikulation an der medizinischen Fakultät der Frankfurter Universität erst im Wintersemester 1919/20 nach Ablegung des Latinums am Realgymnasium der Musterschule zu Frankfurt a. M. Daselbst studierte ich die ersten 6 Semester, die 4 letzten in Düsseldorf, wo ich auch mein Staatsexamen im Frühjahr 1924 bestanden habe. Meine Ausbildung als Facharzt für Kinderkrankheiten habe ich an der Düsseldorfer Klinik von Geh.-Rat Prof. Dr. Schloßmann erhalten. Diese Klinik habe ich im Winter 1928 verlassen, da ich gezwungen war, meinen Lebensunterhalt durch Aerztevertretungen zu bestreiten. Die deutsche Staatsbürgerschaft habe ich vor 2 Jahren erworben.